

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO**

**EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS PRESENTES NA BANANA**  
**VITÓRIA (*Musa spp*) USANDO CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO:**  
**EXPERIMENTAL E MODELAGEM**

**ROBERTA BENICÁ SARTORI**

**2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS PRESENTES NA BANANA  
VITÓRIA (*Musa spp*) USANDO CO<sub>2</sub> SUPERCRTICO:  
EXPERIMENTAL E MODELAGEM**

**ROBERTA BENICÁ SARTORI**

*Sob a Orientação da Professora Dr<sup>a</sup>.*

**Marisa Fernandes Mendes**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência em Engenharia Química, Área de concentração em Tecnologia Química.

Seropédica, RJ  
Fevereiro 2017

S251 Sartori, Roberta Benicá, 1991-  
Extração de agrotóxicos presentes na banana vitória  
(Musa spp) usando CO<sub>2</sub> supercrítico: Experimental e  
Sartoe modelagem / Roberta Benicá Sartori. - 2017.  
83 f.: il.

Orientadora: Marisa Fernandes Mendes.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Engenharia  
Química, 2017.

1. pesticidas. 2. modelagem matemática. 3.  
planejamento de experimento. 4. liofilização. 5. UPLC.  
I. Mendes, Marisa Fernandes, 1972-, orient. II  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso  
de Pós-Graduação em Engenharia Química III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**Curso De Pós-Graduação Em Engenharia Química**

**ROBERTA BENICÁ SARTORI**

Dissertação/Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Engenharia Química**, no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, área de Concentração em Tecnologia Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 22 de Fevereiro de 2017

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marisa Fernandes Mendes (Departamento de Engenharia Química/IT/UFRRJ) (Orientadora)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cláudia Ferreira da Silva Lirio (IFRJ)

---

Prof. Dr. Reinaldo Coelho Mirre (Departamento de Engenharia Química/UFBA)

*Dedico esta dissertação aos meus pais, Lisete e Roberto, que sempre acreditaram no meu potencial, mesmo que, por vezes, eu já não mais acreditava.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre iluminou meus caminhos e nunca me deixou desistir, por mais difíceis que eles fossem.

Aos meus pais, Lisete e Roberto, pela IMENSA força que sempre me fortalece a continuar lutando pelos meus ideais, e que fizeram dessa dissertação uma realidade. Essa vitória também é de vocês.

Ao meu irmão, Leandro, pelo carinho.

Ao meu melhor amigo e namorado, Antenor Novaes Magalhães Júnior, pelo amor, companheirismo, compreensão pela ausência e pela linda amizade.

À toda minha família, em especial aos meus avós, Victório e Linda, que em todos os momentos da minha vida estão sempre presentes, me dando forças para seguir em frente, mesmo que estivéssemos a longa distância.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Marisa Fernandes Mendes, pela orientação, paciência e imensa dedicação. Sou grata por todas as suas críticas que foram construtivas para o meu crescimento pessoal e profissional. Muito obrigada!

A todo o corpo técnico do Instituto de Tecnologia da UFRRJ, que ajudou na realização deste trabalho, em especial a Luizão e Eduardo, que sempre me ajudaram com solicitude por diversas vezes.

Ao Sr. João de Souza, pela doação da banana Vitória e pela atenção.

Ao Laboratório de Agrotóxicos do INCQS (FIOCRUZ-RJ), em especial a Lúcia, Helena, André, Marcelo e Angélica, por muito terem contribuído na concretização deste trabalho, com ideias, sugestões para a melhoria do mesmo, assim como pela IMENSA ajuda durante as análises dos agrotóxicos. A todos vocês, meu muito obrigado!

Ao Laboratório do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, em especial ao técnico Juarez Vicente, por me auxiliar na realização das análises da composição centesimal.

Aos amigos do mestrado, que fizeram meus dias mais felizes e abençoados. Alguns deles vieram de muito longe, o casal mais lindo de Cabo Verde (Isac e Nanny), outros vieram de mais pertinho, Ana e Kelly, todos vieram como anjos para mim.

Ao grupo do Laboratório de Termodinâmica Aplicada e Biocombustíveis, em especial Dani, Igor, Mari, Ana Souza e Isac com os quais tive o grande privilégio de trabalhar e foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela oportunidade.

A todos que, de alguma forma, direta ou indireta, colaboraram na realização deste trabalho e que, embora não citados aqui, não deixam de merecer o meu agradecimento.

## RESUMO

SARTORI, Roberta Benicá. **Extração de agrotóxicos presentes na banana vitória (*Musa spp*) usando CO<sub>2</sub> supercrítico: Experimental e modelagem.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química, Tecnologia Química). Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

A banana é uma fruta tropical cultivada em locais quentes e colhida durante todo o ano, assim como seu consumo é intenso durante todo o ano. Sabe-se que a produtividade da banana, no entanto, está ameaçada devido à vulnerabilidade de tais cultivares a algumas pragas e doenças. Devido a isso, alguns agroquímicos são recomendados para evitar o ataque destes entraves à produtividade da banana, tais como: azoxistrobina, clorotalonil, difenoconazol, imazalil, bifentrina e clorpirifos. Todos esses compostos podem causar sérios problemas de saúde em seres humanos, como o câncer, assim como doenças neurológicas e efeitos reprodutivos adversos estão associados à ingestão e/ou exposição a estas substâncias perigosas. No entanto, mesmo quando aplicados em conformidade com as Boas Práticas Agrícolas, os pesticidas podem deixar resíduos, que ainda podem estar presentes tanto nos solos como nos frutos. Devido a estas considerações, este estudo tem como objetivo a avaliação técnica do fluido supercrítico na extração de agrotóxicos presentes na farinha de banana (*Musa spp*). Assim, os frutos inteiros (8 g), previamente submetidos à liofilização e moagem foram fortificados, durante um período estável de um dia para o outro, com uma solução contendo os padrões dos pesticidas mencionados acima, diluídos em metanol. A unidade experimental consiste basicamente em um extrator de 42 mL, uma bomba de alta pressão e uma válvula micrométrica para remoção da amostra. Foram investigadas diferentes condições operacionais (60 °C a 200 bar, 46 °C a 244 bar, 74 °C a 244 bar, 40 °C a 350 bar, 60 °C a 350 bar, 80 °C a 350 bar, 46 °C a 456 bar e 74 °C - 456 bar e 60 °C - 500 bar) com base em um planejamento experimental. A análise dos pesticidas extraídos foi realizada utilizando cromatografia líquida de ultra desempenho acoplada ao espectrômetro de massa (UPLC-MS). Observou-se que o rendimento do extrato aumentou com o aumento da temperatura. De acordo com os resultados, a extração a 80 °C e 350 bar foi capaz de remover 1,4194% dos extratos na banana. Para o rendimento de pesticidas, observou-se um aumento com o aumento da pressão e a melhor condição foi a 500 bar e 60 °C. Os dados experimentais foram modelados pelos modelos de Esquível *et al.* (1999), Reverchon & Osseo (1994), Zeković *et al.* (2003) e Sovová (1999), apresentando boa correlação. O modelo de Chrastil (1982) conseguiu representar o comportamento da solubilidade dos agrotóxicos com a variação de temperatura e pressão.

**Palavras-Chave:** Pesticidas, liofilização, planejamento de experimento, UPLC, modelagem matemática.

## ABSTRACT

SARTORI, Roberta Benicá. **Extraction of pesticides present in banana Vitória (*Musa spp*) using supercritical CO<sub>2</sub>: Experimental and modeling.** Dissertation (Master in Chemical Engineering, Chemical Technology). Technology Institute, Chemical Engineering Department, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Banana is a tropical fruit cultivated in warm places and harvested during the whole year, as well as its consumption is intense. It is known that banana productivity, however, is threatened due to the vulnerability of the cultivars to some pests and diseases. Because of this, some agrochemicals are recommended to avoid the attack of these hindrances such as: azoxystrobin, chlorothalonil, diphenconazole, imazalil, bifenthrin, and chlorpyrifos. All of them can cause serious health problems in humans such as cancer and neurological diseases and adverse reproductive effects are associated with the consumption and/or exposure to these hazardous substances. However, even when applied in conformity with Good Agricultural Practices, pesticides can leave residues, that can still be present in the soils as well as in the fruits. Due to these considerations, this study has as aim the technical evaluation of supercritical fluid in the extraction of pesticides present in banana flour (*Musa spp*). Therefore, the whole fruits (8 g), previously submitted to lyophilization and milling were fortified, during a stable period of overnight, with a solution containing the agrochemical standards mentioned above, diluted in methanol. The experimental unit consisted basically of a 42 mL extractor, a high pressure pump and a micrometering valve to sample removal. Different operational conditions were investigated (60 °C – 200 bar; 46 °C – 244 bar; 74 °C – 244 bar; 40 °C – 350 bar; 60 °C – 350 bar; 80 °C – 350 bar; 46 °C – 456 bar; 74 °C – 456 bar and 60 °C – 500 bar) based on an experimental design. The analysis of the extracted pesticides was performed using an ultra performance liquid chromatography coupled to a mass spectrometer (UPLC-MS). It was observed that the yield of the extract increased with the temperature increasing. According to the results, the extraction at 80 °C and 350 bar was able to remove 1.4194% of the extracts in the banana. The yield of pesticides increased with the pressure increasing and the better condition was at 500 bar and 60 °C. The experimental data were well modelled by the models of Esquivel et al. (1999), Reverchon & Osseo (1994), Zeković *et al.* (2003) and Sovová (1999). The Chrastil (1982) model could represent the solubility behavior of the pesticides with the variation of temperature and pressure.

**Keyword:** pesticides, lyophilization, experimental design, UPLC, Mathematical modeling.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Ranking dos 20 países produtores de Bananas.....	4
<b>Figura 2</b> - Projeções da produção de bananas no Brasil de 2015 a 2025.....	4
<b>Figura 3</b> - Mercado mundial de agrotóxicos versus mercado brasileiro.....	7
<b>Figura 4</b> - Relação entre produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil.....	8
<b>Figura 5</b> - Diagrama P-T da água.....	11
<b>Figura 6</b> - Curva de extração relacionando rendimento em função do tempo, caracterizando os três períodos distintos da extração.....	15
<b>Figura 7</b> - Polpas (A) e Cascas (B) processadas após inibição enzimática.....	22
<b>Figura 8</b> - A. Farinha da polpa e B. farinha da casca da banana Vitória (Musa spp).....	23
<b>Figura 9</b> - Esquema-resumo das etapas experimentais.....	24
<b>Figura 10</b> - Fluxograma do processo de determinação do teor de proteína, dividido em três etapas.....	26
<b>Figura 11</b> - Esquema da unidade supercrítica montada no LTAB, sendo A: cilindro de CO <sub>2</sub> ; B: bomba de alta pressão; C: banho térmico; D: extrator; E: válvula micrométrica; F: amostra; G: medidor de vazão.....	30
<b>Figura 12</b> - Processo de análise adotado para o extrato e a biomassa residual após EFSC.....	31
<b>Figura 13</b> - Detalhamento do método QuEChERS usado neste trabalho.....	32
<b>Figura 14</b> - Análises cromatográficas dos agrotóxicos Terbufós, Tiabendazol e Bromuconazol, sendo F. amostras fortificadas da biomassa residual orgânica, após EFSC e B. biomassa residual do branco após EFSC.....	36
<b>Figura 15</b> - Curvas de extração para todas as condições experimentais presentes no planejamento experimental.....	39
<b>Figura 16</b> - Curvas das extrações para as condições de 244 bar-74 °C, 244 bar-46 °C e 200 bar-60 °C.....	40
<b>Figura 17</b> - Curvas das extrações para as condições de 350 bar-40 °C, 350 bar-60 °C e 350 bar-80 °C.....	41
<b>Figura 18</b> - Curvas das extrações para as condições de 456 bar-46 °C, 456 bar-74 °C e 500 bar-60 °C.....	42
<b>Figura 19</b> - Gráfico de Pareto para a análise do rendimento de extrato bruto.....	43
<b>Figura 20</b> - Superfície de resposta relacionando o rendimento da extração em função da temperatura e da pressão.....	44
<b>Figura 21</b> - Gráfico de Pareto para a análise do rendimento dos agrotóxicos.....	49
<b>Figura 22</b> - Superfície de resposta relacionando o rendimento dos agrotóxicos em função da temperatura e da pressão.....	50
<b>Figura 23</b> - Micrografias das amostras com ampliação de 300 vezes para a casca e de 10000 vezes para a polpa. Amostra in natura a. casca e b. polpa. Após extração a1. e b1. são as cascas e polpas, após a EFSC a 200 bar – 60 °C e a 500 bar a 60°C, respectivamente.....	52
<b>Figura 24</b> - Micrografias das amostras com ampliação de 300 vezes para a casca e de 10000 vezes para a polpa. Amostra in natura a. casca e b. polpa. Após extração a1. e b1. são as cascas e polpas, após a EFSC a 350 bar - 40 °C e a2. e b2. cascas e polpas, após a EFSC a 350 bar - 80 °C, respectivamente.....	53
<b>Figura 25</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Esquível et al. (1999), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74°C.....	55
<b>Figura 26</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Esquível et al. (1999), a 350 bar – 40 °C, 350 bar – 60 °C e 350 bar – 80 °C.....	55

<b>Figura 27</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Esquível et al. (1999), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.....	56
<b>Figura 28</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Reverchon & Osseo (1994), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74°C.....	58
<b>Figura 29</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Reverchon & Osseo (1994), a 350 bar – 40 °C, 350 bar – 60°C e 350 bar – 80 °C.....	58
<b>Figura 30</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Reverchon & Osseo (1994), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.....	59
<b>Figura 31</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Zeković et al. (2003), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74°C.....	59
<b>Figura 32</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Zeković et al. (2003), a 350 bar – 40 °C, 350 bar – 60°C e 350 bar – 80 °C.....	60
<b>Figura 33</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Zeković et al. (2003), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.....	60
<b>Figura 34</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Sovová (1994), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74°C.....	62
<b>Figura 35</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Sovová (1994), a 350 bar – 40 °C, 350 bar – 60°C e 350 bar – 80 °C.....	62
<b>Figura 36</b> - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Sovová (1994), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.....	63

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Teor de componentes na casca e nas partes comestíveis em 100 gramas de amostra “in natura” da banana.....	5
<b>Tabela 2</b> - Comparação entre as principais técnicas modernas de extração de resíduos de agrotóxicos em alimentos.....	10
<b>Tabela 3</b> - Matriz do Planejamento Fatorial Composto Rotacional aplicada à extração de agrotóxicos presentes na Musa spp.....	29
<b>Tabela 4</b> - Condições do UPLC-MS/MS utilizadas para a análise de resíduos de agrotóxicos em (ES+).....	33
<b>Tabela 5</b> - Apresentação dos modelos matemáticos utilizados para o estudo da cinética de extração.....	34
<b>Tabela 6</b> - Resultados da composição química, em percentagem, das amostras in natura e após a extração supercrítica.....	37
<b>Tabela 7</b> - Densidade aparente do leito e porosidade do leito.....	38
<b>Tabela 8</b> - Rendimentos obtidos das extrações realizadas nas diferentes condições operacionais.....	39
<b>Tabela 9</b> - Coeficientes de regressão, erro padrão e p-valor, obtidos para o rendimento bruto dos extratos.....	42
<b>Tabela 10</b> - Análise de Variância para o rendimento do extrato bruto.....	43
<b>Tabela 11</b> - Rendimento de extração dos agrotóxicos presentes na farinha de banana verde com dióxido de carbono supercrítico.....	45
<b>Tabela 12</b> - Resultados das análises dos agrotóxicos extraídos, para cada condição operacional pela EFSC e por Soxhlet.....	46
<b>Tabela 13</b> - Coeficientes de regressão, erro padrão e p-valor, obtidos para o rendimento dos agrotóxicos.....	49
<b>Tabela 14</b> - Análise de Variância para o rendimento dos agrotóxicos.....	50
<b>Tabela 15</b> - Comparação entre as variáveis para a extração dos agrotóxicos e do extrato bruto.....	51
<b>Tabela 16</b> - Dados experimentais e calculados pelo modelo de Esquível et al. (1999) relativos à extração dos agrotóxicos presentes na farinha da Musa spp. com CO <sub>2</sub> -SC.....	54
<b>Tabela 17</b> - Dados calculados e desvio relativo obtido para o modelo de Reverchon & Osseo (1994) nas diferentes condições de pressão e temperatura.....	57
<b>Tabela 18</b> - Dados calculados e desvio relativo obtido para o modelo de Zeković et al. (2003) nas diferentes condições de pressão e temperatura.....	57
<b>Tabela 19</b> - Parâmetros do modelo e desvios relativos para cada condição de operação.....	61
<b>Tabela 20</b> - Desvios relativos para os modelos matemáticos aplicados às curvas de extração.....	64
<b>Tabela 21</b> - Dados experimentais (S <sub>exp</sub> ) e preditos (S <sub>calc</sub> ) pelo modelo de Chrastil (1982) das solubilidades dos agrotóxicos (mg de agrotóxicos / L de CO <sub>2</sub> ) em CO <sub>2</sub> -SC, para todas as condições experimentais.....	65
<b>Tabela 22</b> - Caracterização química dos agrotóxicos selecionados para estudo.....	79
<b>Tabela 23</b> - Princípios ativos dos agrotóxicos presentes na solução estoque.....	82

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1</b> - Modelo de Esquivel <i>et al.</i> (1999).....	16
<b>Equação 2</b> - Modelo Reverchon & Osseo (1994).....	17
<b>Equação 3</b> – Equação modificada de Reverchon & Osseo (1994).....	17
<b>Equação 4</b> – Rendimento de extração normalizado.....	18
<b>Equação 5</b> – Modelo de Zekovic <i>et al.</i> (2003).....	18
<b>Equação 6</b> – Modelo de Sovová (1994).....	19
<b>Equação 7</b> – Cálculo do $q_0$ do modelo de Sovová (1994).....	19
<b>Equação 8</b> – Cálculo do $q_n$ do modelo de Sovová (1994).....	19
<b>Equação 9</b> – Cálculo do $Z_w$ do modelo de Sovová (1994).....	19
<b>Equação 10</b> – Modelo de Chrastil (1982).....	20
<b>Equação 11</b> – Cálculo do diâmetro médio de Sauter.....	25
<b>Equação 12</b> – Diâmetro médio entre as malhas.....	25
<b>Equação 13</b> – Determinação de carboidratos.....	27
<b>Equação 14</b> – Densidade aparente da biomassa.....	28
<b>Equação 15</b> – Porosidade do leito.....	28
<b>Equação 16</b> – Desvio relativo médio .....	35
<b>Equação 17</b> – Rendimento do Soxhlet.....	38
<b>Equação 18</b> – Rendimento experimental com FSC (e%).....	38
<b>Equação 19</b> – Rendimento dos agrotóxicos (R%).....	38
<b>Equação 20</b> – Modelo codificado para o rendimento bruto (e%).....	44
<b>Equação 21</b> – Rendimento de cada agrotóxico (RA%).....	48
<b>Equação 23</b> – Modelo codificado para o rendimento dos agrotóxicos (R%).....	50

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1	Banana.....	3
2.1.1	Composição química e características funcionais da banana.....	5
2.1.2	Contaminação da banana por agrotóxicos.....	6
2.2	Agrotóxicos.....	6
2.2.1	Histórico de agrotóxicos no Brasil e no Mundo.....	7
2.2.2	Classificação dos agrotóxicos.....	8
2.2.3	Agrotóxicos selecionados para estudo.....	9
2.3	Principais Técnicas de Extração de Agrotóxicos.....	9
2.3.1	Extração com fluido supercrítico.....	11
2.3.2	Extração de agrotóxicos presentes em matérias-primas alimentícias usando CO <sub>2</sub> supercrítico.....	12
2.4	Considerações Sobre a Revisão Bibliográfica.....	14
3	MODELAGEM MATEMÁTICA.....	15
3.1	Cinética da Extração.....	15
3.2	Modelagem Matemática.....	16
3.2.1	Modelo de Esquivel <i>et al.</i> (1999).....	16
3.2.2	Modelo de Reverchon & Osseo (1994) e Zeković <i>et al.</i> (2003).....	17
3.2.3	Modelo de Sovová (1994).....	18
3.3	Modelo de Solubilidade.....	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1	Materiais.....	22
4.1.1	Matéria-prima.....	22
4.1.2	Solventes.....	23
4.2	Métodos.....	23
4.2.1	Preparo da amostra.....	24
4.2.2	Diâmetro médio das partículas.....	25
4.2.3	Caracterização química da matéria-prima.....	26
4.2.4	Densidade aparente do leito e porosidade do leito.....	27
4.2.5	Procedimento experimental para extração convencional.....	28
4.2.6	Extração com fluido supercrítico.....	28
4.2.7	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	31
4.2.8	Métodos analíticos.....	31
4.2.9	Modelagem matemática.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	36
5.1	Análise da Amostra In Natura e Após Fortificação.....	36
5.1.1	Diâmetro médio das partículas.....	36
5.2	Composição Química da Biomassa Antes e Após a Extração com Fluido Supercrítico.....	37
5.3	Densidade Aparente do Leito e Porosidade do Leito.....	37
5.4	Extração Convencional.....	38
5.5	Extração com CO <sub>2</sub> -SC.....	38
5.6	Análises dos Agrotóxicos Extraídos da Farinha de Banana Verde.....	44
5.7	Resultados dos Agrotóxicos Extraídos Frente aos dos Extratos Brutos Obtidos da Farinha de Banana Verde.....	51
5.8	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	52

5.9 Modelagem Matemática dos Resultados.....	54
5.10 Modelo de Chrastil (1982).....	64
6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	67
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXO I – Características dos agrotóxicos estudados.....	79
ANEXO II – Lista dos agrotóxicos presentes na solução estoque.....	82

# 1 INTRODUÇÃO

A banana é uma fruta de cultura perene, produzida tipicamente em regiões subtropicais e destaca-se no ranking mundial dos alimentos em termos de sua importância como uma cultura alimentar, ficando atrás apenas das uvas, frutas cítricas e maçãs. De fato, essa fruta possui um alto valor nutricional, com simbólica ingestão de gorduras e é uma rica fonte de ácidos graxos insaturados e esteróis, com propriedades valiosas à saúde humana (VILLAVERDE *et al.*, 2013; ARVANITOYANNIS & MAVROMATIS, 2009; EL-KHISGIN *et al.*, 2009).

Economicamente, a banana destaca-se na quinta produção agrícola de alimentos em termos de comércio mundial, após o café, cereais, açúcar e cacau. É cultivada em mais de 130 países (SINGH *et al.*, 2016), dos quais os principais produtores são Índia, China, Filipinas e Brasil. Este país é o quarto maior produtor mundial de banana e apresenta projeções otimistas para a produção dessa fruta, visto que em 10 anos está previsto um aumento de, aproximadamente, 9% em sua produção no país (FAOSTAT, 2014).

Contudo, a produtividade da banana é afetada por alguns entraves, devido à vulnerabilidade desses cultivares, à doenças como o Mal-de-sigatoka e o Mal-do-panamá, sendo também muito atacada pela broca-da-bananeira (MANICA, 1997; BEZERRA *et al.*, 2010). Diante disso, percebeu-se a necessidade de desenvolver bananas resistentes às principais doenças, que a tornaram susceptíveis a outras, sendo associado o uso indiscriminado de agrotóxicos ao desenvolvimento desses novos cultivares. A banana ‘Vitória’ (*Musa spp.*), por exemplo, é resistente às doenças Mal-de-sigatoka e Mal-do-panamá, porém é muito vulnerável ao ataque pela broca-da-bananeira. Sendo assim, para combater essas pragas e doenças na banana, são recomendados, pela regulamentação, alguns agrotóxicos como: azoxistrobina, clorotalonil, difenoconazol, imazalil, bifentrina e clorpirifós (HERNÁNDEZ & ANGELES, 2015).

Com esse aumento abrupto no consumo de agrotóxicos, muito devido a intensificação da produção dos alimentos, o Brasil assumiu a liderança do ranking mundial de comercialização de agrotóxicos desde 2008 (REBELO *et al.*, 2010), permanecendo nesta posição até os dias atuais. De acordo com os dados publicados pela ANVISA e pelo Observatório da Indústria dos Agrotóxicos da UFPR, enquanto nos últimos dez anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190% (ANVISA & UFPR, 2012).

A extração destes agentes químicos extremamente danosos ao meio ambiente e, em especial, à saúde humana, tem sido intensamente investigada devido às enormes consequências atreladas a sua ingestão, sendo por isso imprescindível desenvolver um método multiresíduo que seja seletivo para uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades e em níveis traços de concentração. Diante disso, a implementação da técnica de extração com dióxido de carbono no estado supercrítico (CO<sub>2</sub>-SC) é considerada adequada, uma vez que o método não degrada os agrotóxicos extraídos e não usa solvente orgânico.

Alguns estudos da literatura investigaram a extração de agrotóxicos usando CO<sub>2</sub>-SC, como o de Lehotay & Valverde-Garcia (1997), que investigaram 57 agrotóxicos de cinco grupos químicos com distintas polaridades (organofosforados, organonitrogenados, carbamatos, piretróides e imidazol), presentes em laranja, batata doce e feijão verde. Esses autores obtiveram resultados positivos, que variaram de 75 a 90% para todos os grupos e matrizes em estudo. Já Rissato e colaboradores (2004), ao estudarem a extração de 33 agrotóxicos dos grupos organofosforados, organonitrogenados, organohalogenados e piretróides presentes em mel, avaliaram a influência da acetona como co-solvente na extração desses compostos com CO<sub>2</sub>-SC. Para tanto, foram variadas a pressão (200, 400 e 600 bar) e a

temperatura (40, 60 e 90 °C) e foram obtidas eficiências de 75 a 100%, na condição ótima de 400 bar e 90 °C. Com isso, tem-se a motivação para a realização do presente estudo em investigar uma matéria prima que pouco se tem estudado a respeito da extração de diversos agrotóxicos com a finalidade de eliminá-los da biomassa, que possui elevado teor dos compostos de alto valor agregado, direcionando-a para aplicação em suplementação alimentar.

Nesse contexto, a presente dissertação tem como objetivo estudar a viabilidade técnica da extração de 27 agrotóxicos presentes na banana Vitória *Musa spp.*, empregando-se dióxido de carbono no estado supercrítico como solvente. Para esta finalidade, alguns objetivos específicos foram propostos, tais como: analisar estatisticamente a influência das variáveis temperatura e pressão na cinética de extração do extrato bruto e a influência dessas variáveis para os rendimentos dos agrotóxicos; produzir e caracterizar quimicamente a farinha de banana verde pela determinação da composição centesimal antes e após a extração com CO<sub>2</sub>-SC; analisar a biomassa através da microscopia eletrônica de varredura (MEV); analisar a biomassa residual por UPLC/MS-MS, para quantificar os agrotóxicos remanescentes da extração supercrítica; modelar matematicamente o processo de cinética de extração usando os modelos de Esquivel *et al.* (1999), Reverchon & Osseo (1994), Zeković (2003) e Sovová (1994) e prever a solubilidade dos agrotóxicos usando o modelo de Chrastil (1982).

Portanto, essa dissertação está dividida em 6 capítulos. O capítulo 2 relata a revisão bibliográfica que aborda assuntos acerca da produção de banana e suas características funcionais, bem como os entraves à sua produtividade que está atrelada ao uso indiscriminado de agrotóxicos. Além disso, relata-se um breve histórico de agrotóxicos no Brasil e no mundo e as principais técnicas de extração destes presentes em frutas. No capítulo 3 apresentam-se todos os modelos aplicados nesta dissertação, incluindo os matemáticos e o de solubilidade, além de um estudo comparativo com os trabalhos que envolveram esses modelos e seus principais resultados foi discutido. No capítulo 4, têm-se todos os materiais, os métodos e as análises químicas e cromatográficas empregadas, que foram utilizados nesta dissertação, bem como a descrição do processo extrativo utilizado para promover a extração dos agrotóxicos contidos na banana Vitória (*Musa spp*). No capítulo 5 são apresentados os resultados experimentais e das modelagens aplicadas nas cinéticas de extração. As conclusões e sugestões para trabalhos futuros encontram-se no capítulo 6.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

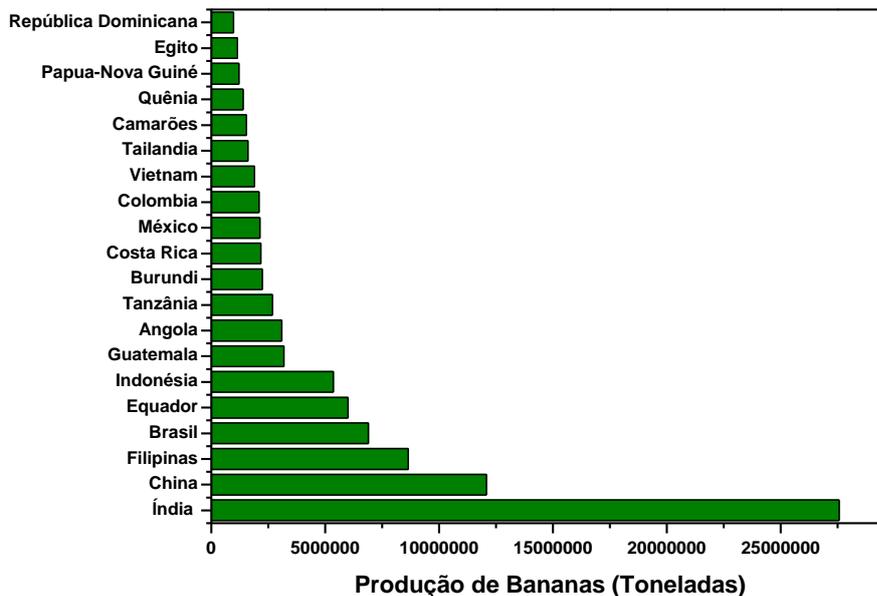
Neste capítulo apresenta-se uma revisão bibliográfica destacando-se assuntos relacionados à matéria-prima investigada, *Musa spp.*, tais como suas características funcionais e composição química, além de explorar os principais compostos extraídos desta fruta, a partir da tecnologia de extração com fluido supercrítico. Além desses, retratam-se alguns trabalhos que pontuam a contaminação da banana por agrotóxicos, assim como as respectivas técnicas extrativas empregadas. Em seguida, é apresentada uma revisão sobre a tecnologia de extração supercrítica e seus fundamentos, enfatizando a extração de agrotóxicos em diferentes matrizes alimentícias. Por fim, será descrito o que tem sido feito, até o presente momento, em termos de modelagem matemática baseada nas cinéticas de extração com fluido supercrítico, desenvolvida a partir da matéria-prima em estudo.

### 2.1 Banana

A palavra 'banana' refere-se a um número de espécies ou híbridos (COMIM *et al.*, 2010), que têm gênero *Musa* e pertence à família *Musacea* (LASSOUDIÈRE, 2007), compreendendo todas as cultivares comestíveis (STOVER & SIMMONDS, 1987). Os híbridos surgiram a partir de duas espécies diploides, com genomas AA e BB, que são nativas do sudeste da Ásia. Existem mais do que 300 tipos de bananas cultivadas em todo o mundo, que se diferem apenas no arranjo de ploidia, dependendo do número básico de cromossomos e podem ser classificados como diploides (AA, AB), triploides (AAA, AAB) e tetraploides (AAAA, AAAB, AABB, e ABBB) (EL-KHISGIN *et al.*, 2009). Os frutos das subespécies AA e AAA são mais doces e incluem quase todos os cultivares de importância atual do mercado (ZHANG *et al.*, 2005; OSUJI *et al.*, 1997).

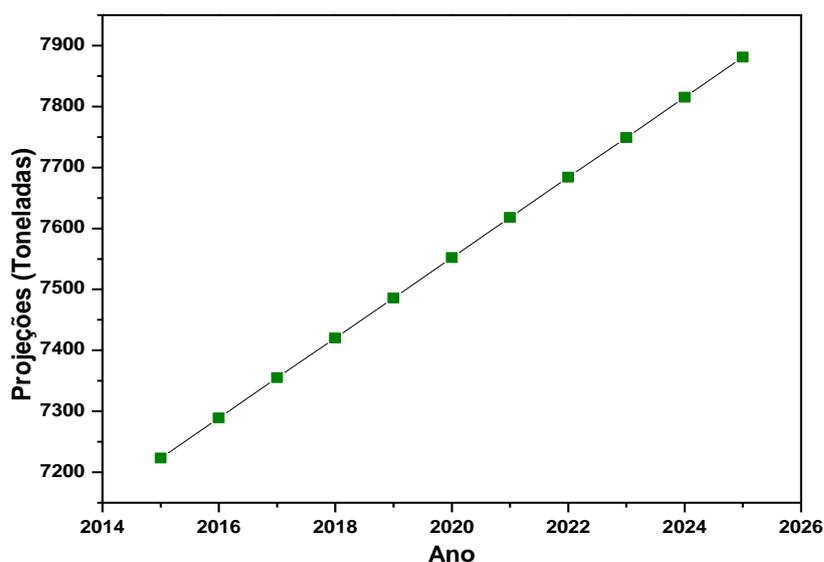
Em geral, a produção de bananas baseia-se nos cultivares triploides. No entanto, o genoma diploide torna-se importante, porque é uma fonte de resistência e tolerância ao estresse de alelos - formas alternativas de um mesmo gene - bióticos e abióticos (JENNY *et al.*, 2003). Os programas de melhoramento genético de bananeira em todo o mundo têm gerado híbridos tetraploides, através de cruzamentos entre cultivares triploides e diploides, selvagens ou melhorados, dos quais têm características agrônômicas de interesse, incluindo pequeno tamanho, resistência a pragas e qualidade físico-química dos frutos (SILVA *et al.*, 2002). Dentre esses híbridos, destaca-se a banana 'Vitória' (*Musa spp.*) (AAAB), obtida pelo cruzamento entre o parental feminino cv. Pacovan, triploide (AAB) e o parental masculino diploide (AA), por compreender cultivares com excelentes produtividades e por serem resistentes às principais pragas e doenças, tais como as Sigatokas negra (*Mycosphaerella fijiensis*) e amarela (*Mycosphaerella musicola*) e o Mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*) (VENTURA *et al.*, 2007).

Essa fruta de cultura perene e produzida tipicamente em regiões subtropicais destaca-se no ranking mundial dos alimentos em termos de sua importância como uma cultura alimentar. Economicamente, a banana é a quinta produção agrícola de alimentos em termos de comércio mundial, após o café, cereais, açúcar e cacau; e é uma cultura frutícola importante no mundo, ficando atrás apenas das uvas, frutas cítricas e maçãs (AURORE *et al.*, 2009). É sabido que a banana é cultivada em mais de 130 países (SINGH *et al.*, 2016), dos quais os principais produtores mundiais dessa fruta são Índia, China, Filipinas, Brasil e Equador, conforme Figura 1 (FAOSTAT, 2014).



**Figura 1** - Ranking dos 20 países produtores de Bananas (FAOSTAT, 2014).

A maioria dessa fruta é consumida nos países onde são cultivadas e apenas 20% são exportadas para outros países. Estima-se que a produção de banana, de acordo com os dados da FAOSTAT (2014), empregue, direta e indiretamente, 960 mil pessoas no mundo, tendo notória importância econômica. O Equador é o maior exportador de banana e os EUA constituem o principal país de importação desta fruta no mundo (FAOSTAT, 2014). O Brasil, quarto maior produtor mundial de banana, apresenta projeções otimistas para a produção e, conforme ilustra a Figura 2, em 10 anos a produção de bananas no país aumentará cerca de 9%.



**Figura 2** - Projeções da produção de bananas no Brasil de 2015 a 2025 (FAOSTAT, 2016).

A banana é constituída por casca e polpa comestíveis, que têm um alto valor nutricional (EL-KHISGIN *et al.*, 2009) e suas potenciais aplicações são dependentes da composição química (EMAGA *et al.*, 2007; RODRIGUEZ-AMBRIZ *et al.*, 2008), bem como das propriedades físico-químicas e funcionais.

### 2.1.1 Composição química e características funcionais da banana

Além de conter elevados teores de carboidratos, fibras, vitaminas e minerais (Tabela 1), a banana possui simbólica ingestão de gorduras (ARVANITOYANNIS & MAVROMATIS, 2009) e é uma rica fonte de fitoquímicos lipófilos (VILLAYERDE *et al.*, 2013), incluindo os ácidos graxos insaturados e esteróis (KNAPP & NICHOLAS, 1969; OLIVEIRA *et al.*, 2008), com propriedades valiosas à saúde humana (MOREAU, WHITAKER, & HICKS, 2002).

**Tabela 1-** Teor de componentes na casca e nas partes comestíveis em 100 gramas de amostra “in natura” da banana.

<b>Parâmetro</b>	<b>Polpa</b>	<b>Casca</b>
Umidade (g)	64,00	89,47
Cinzas (g)	0,80	0,95
Lipídeos (g)	0,00	0,99
Proteínas (g)	1,00	1,69
Fibras (g)	1,50	1,99
Carboidratos (g)	34,00	4,91
Calorias (kcal)	128,00	35,30
Cálcio (mg)	0,00	66,71
Ferro (mg)	0,30	1,26
Sódio (mg)	< 0,40	54,27
Magnésio (mg)	24,00	29,96
Zinco (mg)	0,30	1,00
Cobre (mg)	0,05	0,10
Potássio (mg)	328,00	300,92

Fonte: Gondim *et al.*, 2005.

Os compostos bioativos presentes na composição da banana verde têm um potencial terapêutico evidente ao contribuir para as atividades antioxidantes. Dentre estes, os principais fitoquímicos presentes nas diversas variedades de bananas que estão relacionados com a saúde humana são os compostos fenólicos, carotenoides, flavonoides e aminas biogênicas (SINGH *et al.*, 2015). Os ésteres de esteril e esteróis livres são os principais componentes lipofílicos encontrados na casca de banana verde, enquanto que os ácidos graxos livres e esteróis são predominantes na polpa da fruta (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Além desses, alguns metabólitos secundários estão intrínsecos às composições da banana, tais como as catecolaminas e a piridoxina (vitamina B6), que possuem a capacidade de estimular a função hepática, atuar na formação dos glóbulos vermelhos, manter a função normal dos nervos e atuar positivamente nas reações químicas de proteínas (KANAZAWA & SAKAKIBARA, 2000).

A fim de avaliar os compostos presentes em diferentes espécies de banana, Davey *et al.* (2006) quantificaram o conteúdo de provitamina A em dois tipos de bananas, *Musa cavendish* e Yangambi-5 e em suas respectivas cascas. As análises destes autores apontaram um alto conteúdo desses compostos, tais como o trans  $\alpha$ -caroteno, o trans  $\beta$ -caroteno e o  $\beta$ -criptoxantina, cujos teores foram característicos para cada genótipo estudado. Eles ainda

notaram que na casca o conteúdo de carotenoides é mais significativo e conta com uma variedade de compostos maior do que na polpa das bananas. Estes carotenoides identificados na banana são capazes de se converterem à vitamina A e, dessa forma, prevenirem doenças como as cardiovasculares, o câncer, e a degeneração muscular relacionada à idade e à catarata (HANDELMAN, 2001; DUTTA *et al.*, 2005; RAO & RAO, 2007). Além disso, estes compostos foram identificados também como potenciais inibidores da doença de Alzheimer (BAKÓ *et al.*, 2002; DUTTA *et al.*, 2005; RODRIGUEZ-AMAYA *et al.*, 2008).

Someya *et al.* (2012) compararam os compostos bioativos presentes na casca e na polpa de banana verde e verificaram que o teor destes foi maior na casca do que na polpa, o que implica em um valor potencialmente maior da casca em termos de conteúdo antioxidante. Todavia, tem-se observado o direcionamento desses ‘resíduos’ como bioadsorventes (ANNADURAI *et al.*, 2003), na alimentação animal e na compostagem (BAKRY *et al.*, 1997) e nas produções de álcool (TEWARI *et al.*, 1986) e de metano (GUNASEELAN, 2004). Para Someya e colaboradores (2012), a combinação dos nutrientes provenientes das cascas e polpas de banana dispostas em forma de farinha, estimularia a utilização da casca de banana como ingrediente inovador em diversos alimentos e produtos nutracêuticos, sendo explorado como um ingrediente funcional, conferindo benefícios para a saúde em seres humanos.

Corroborando com esses autores, Alkarkhi *et al.* (2011) consideraram a banana verde um produto ideal para a industrialização, por conter elevadas concentrações de amidos resistentes e baixos teores de açúcar solúveis. Entretanto, a produção da banana em larga escala encontra-se ameaçada por algumas pragas e doenças, que podem ser combatidas através da utilização de agrotóxicos.

### **2.1.2 Contaminação da banana por agrotóxicos**

Conforme mencionado anteriormente, a produtividade da banana é afetada por alguns entraves, devido à vulnerabilidade desses cultivares a doenças como o Mal-de-sigatoka e o Mal-do-panamá, sendo também muito atacada pela broca-da-bananeira (MANICA, 1997; BEZERRA *et al.*, 2010).

Diante disso, percebeu-se a necessidade de desenvolver bananas resistentes às principais doenças, que a tornaram susceptíveis a outras, sendo associado o uso indiscriminado de agrotóxicos ao desenvolvimento desses novos cultivares de bananeiras, tais como a banana ‘Vitória’, que é resistente às doenças Mal-de-sigatoka e Mal-do-panamá, porém é muito susceptível ao ataque pela broca-da-bananeira. Isso vem se refletindo em danos ambientais e à saúde humana, devido às ações toxicológicas inerentes aos agrotóxicos.

Portanto, torna-se imprescindível investigar a presença desses nestas frutas, destacando-se as cascas da banana por serem ‘resíduos’ intensamente gerados e possuírem, além de importantes substâncias que contribuem à saúde humana, elevados teores de agrotóxicos adsorvidos, que são extremamente prejudiciais à mesma. Para combater essas pragas e doenças na banana, são recomendados alguns agrotóxicos como: azoxistrobina, clorotalonil, difenoconazol, imazalil, bifentrina e clorpirifós (HERNÁNDEZ & ANGELES, 2015). Existem, entretanto, cerca de 40 ingredientes ativos permitidos para essa fruta e que, por isso, compreenderão os agrotóxicos estudados neste trabalho.

## **2.2 Agrotóxicos**

A Lei 7.802 de 1989 define agrotóxicos como:

“Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos”. (Art. 2; § 1, item a).

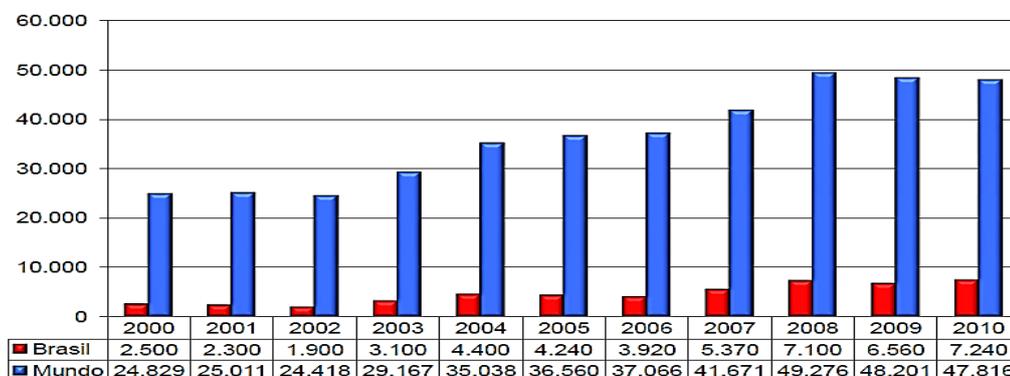
No corrente ano de 2016, entretanto, está havendo um retrocesso da Legislação referente ao Projeto de Lei 3200, que visa à substituição da Lei 7802. Neste projeto, que menciona uma mudança da denominação de agrotóxicos para defensivo fitossanitário, há um enfoque de urgência quanto aos processos de registro de agrotóxicos. Este registro permanece sendo de responsabilidade dos três órgãos governamentais: a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A ANVISA estabelece o Limite Máximo de Resíduo (LMR), a Ingestão Diária Aceitável (IDA) dos ingredientes ativos e a classificação toxicológica dos produtos formulados. O MAPA avalia a eficiência agrônômica e aprova o rótulo do produto. Já o IBAMA, avalia o impacto do pesticida no meio ambiente e em outros organismos vivos (BRASIL, 2002).

De acordo com a Resolução - RE nº 165, de 29 de agosto de 2003, o LMR pode ser entendido como:

“[...] a quantidade máxima de resíduo de agrotóxico ou afim oficialmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes de alimento (em peso) (ppm ou mg / kg)”. (Art. 4º; Item I)

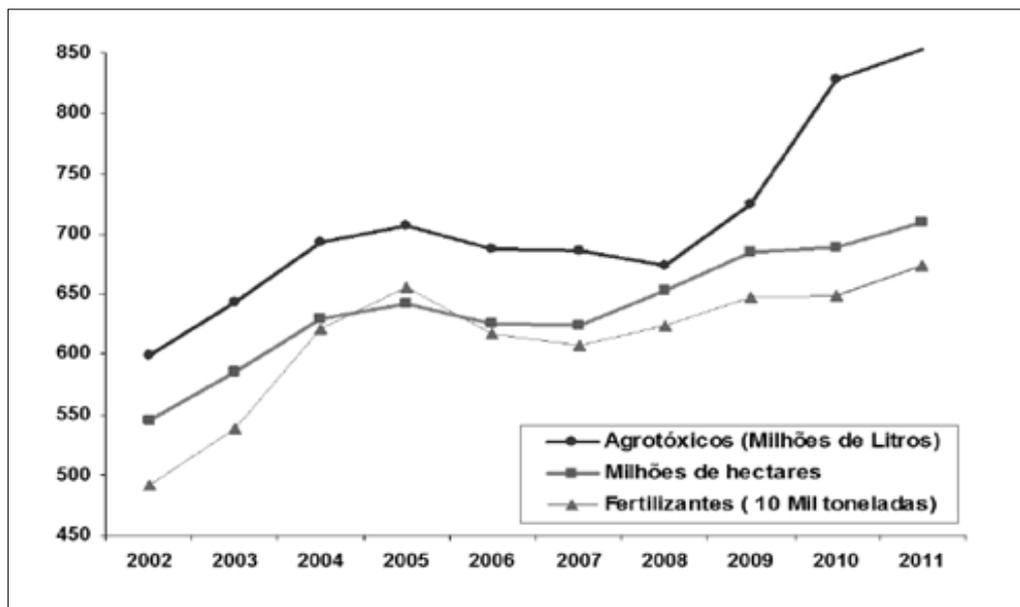
### 2.2.1 Histórico de agrotóxicos no Brasil e no Mundo

Desde 2008, o Brasil assumiu a liderança do ranking mundial de comercialização de agrotóxicos (REBELO *et al.*, 2010), permanecendo nesta posição até os dias atuais. De acordo com os dados publicados pela ANVISA e pelo Observatório da Indústria dos Agrotóxicos da UFPR, enquanto nos últimos dez anos o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190% (ANVISA & UFPR, 2012), conforme pode ser notado na Figura 3.



**Figura 3** - Mercado mundial de agrotóxicos versus mercado brasileiro. (ANVISA & UFPR, 2012).

Em consonância com tal constatação, González-Rodríguez *et al.* (2011) afirmaram que o uso de agrotóxicos tem sido a principal estratégia de controle e prevenção de pragas durante o cultivo e após a colheita. De fato, o uso de agrotóxicos na produção agrícola, dentro de um manejo adequado, evita que a produção seja diminuída a 40%, mas seu uso excessivo e inadequado pode acarretar em danos ambientais, muitas vezes irreparáveis, e causar sérias consequências à saúde humana (MARQUES, 2005). A Figura 4 retrata a relação entre a produção agrícola, o consumo de agrotóxicos e o uso de fertilizantes nas lavouras do Brasil, de 2002 a 2011 (CARNEIRO *et al.*, 2012).



**Figura 4** - Relação entre produção agrícola e consumo de agrotóxicos e fertilizantes químicos nas lavouras do Brasil. (CARNEIRO *et al.*, 2012).

Diante disso, pode-se notar, na Figura 4, que desde o ano de 2002, o uso de agrotóxicos é diretamente proporcional a intensidade de produção agrícola, em milhões de hectares, até o ano de 2007. Somente em 2008, essa relação não é coerente visto que, enquanto o uso de agrotóxicos decresceu, a produtividade agrícola teve um significativo aumento. A partir desse ano, o uso de agrotóxicos ascendeu drasticamente, apontando em uma tendência promissora em relação ao seu uso na agricultura.

### 2.2.2 Classificação dos agrotóxicos

Os agrotóxicos compreendem cerca de 800 compostos registrados como ingredientes ativos comercializados no mundo e pertencem a mais de 100 classes químicas (BOTITSI *et al.*, 2007), das quais abrangem os inseticidas, os fungicidas, os herbicidas, os acaricidas, os nematicidas, as substâncias destinadas para uso como reguladores de crescimento, os feromônios, os desfolhantes e os protetores de sementes (BAKIRCI *et al.*, 2014).

Diante dessa vasta diversidade de produtos constituídos por mais de mil formulações comerciais distintas, se faz necessário conhecer as diversas maneiras pelas quais os agrotóxicos podem ser classificados (REVELO, 2010). Essa classificação pode ocorrer de acordo com seu modo de ação no organismo alvo, em relação aos efeitos que causa à saúde humana e quanto à sua estrutura química (SAVOY, 2011). Assim, cerca de quarenta princípios ativos dos agrotóxicos permitidos para os cultivares de bananas foram avaliados

conforme a sua estrutura química, abrangendo ao todo dez grupos químicos distintos, sendo esses: triazina, estrobilurinas, triazol, carbamato, organofosforados, ureia, imidazol, neonicotinóide, anilino piridina e benzimidazol.

### 2.2.3 Agrotóxicos selecionados para estudo

Baseado na vulnerabilidade da cultura da bananeira e diante do relatório consolidado de ingredientes ativos permitidos para esta fruta, determinou-se um conjunto de, aproximadamente, quarenta agrotóxicos para serem investigados neste trabalho, cujas caracterizações químicas estão sintetizadas no ANEXO I. Dentre estes compostos, apenas dois não são autorizados para banana e foram selecionados, apesar disso, por terem sido intensamente identificados nesta fruta. Buscou-se relacionar, nesta tabela, o modo de ação inerente a cada composto estudado, assim como o LMR, a modalidade de uso e as suas respectivas propriedades químicas como o coeficiente de partição do octanol-água; a solubilidade em água, a temperatura de ebulição e a massa molar, a fim de facilitar o entendimento de suas características físico-químicas.

Nesse contexto, a dependência do uso de agrotóxicos na agricultura é real e imprescindível para garantir alimentos em quantidade. Entretanto, para obter alimentos no quesito qualidade, esses agentes químicos devem ser usados adequadamente. Contudo, é notório que traços de resíduos de agrotóxicos presentes no solo, água, ar e alimentos podem ser prejudiciais à saúde humana e ao meio ambiente (DAMS, 2006). Diante dessa problemática ambiental e de saúde pública, viu-se, então, a motivação de estudar detalhadamente as principais técnicas extrativas de agrotóxicos, a fim de buscar a mais eficiente e promissora para extraí-los dos alimentos, identificá-los e quantificá-los.

## 2.3 Principais Técnicas de Extração de Agrotóxicos

A extração dos agrotóxicos é particular para cada matriz e, por isso, deve ser realizado um desenvolvimento e uma otimização das condições experimentais do processo extrativo envolvido (JARDIM *et al.*, 2009).

Vários trabalhos têm sido conduzidos com aplicação de inúmeros métodos de extração de agrotóxicos em frutas e verduras, tais como as técnicas que utilizam extração assistida por microondas (MAE) (HOLSTEGE *et al.*, 1994; PAPADAKIS *et al.*, 2006); extração acelerada por solventes (PLE) (SINGH *et al.*, 2004; CARABIAS-MARTINEZ *et al.*, 2005; GIERGIELEWICZ-MOZAJSKA *et al.*, 2001); dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) (RAMOS *et al.*, 2002; BARKER, 2000); microextração em fase sólida (SPME) (VALSAMAKI *et al.*, 2006; CORREIA *et al.*, 2001; PAWLISZYN, 1997); e a extração com membrana assistida por solvente (MASE) (LING & TENG, 1997; HYOTYLAINEN *et al.*, 2002; JAKUBOWSKA *et al.*, 2002).

Além desses, o método que utiliza fluidos no estado supercrítico (EFSC) vem sendo aplicado com sucesso para a extração de multiresíduos de agrotóxicos (ABBAS *et al.*, 2008; LEHOTAY, 2002; CAMEL, 1998; LING & TENG, 1997). Esta técnica tem enfrentado um crescente interesse nos últimos anos, devido às suas inúmeras vantagens sobre as clássicas extrações com solventes líquidos. Em particular, suas aplicações têm sido relatadas para a determinação de pesticidas em matrizes complexas, tais como solos e sedimentos, amostras de água, materiais de planta, tecidos animais e matrizes alimentícias (CAMEL, 1998).

De fato, cada método desses apresenta vantagens e desvantagens, como as detalhadas na Tabela 2.

**Tabela 2-** Comparação entre as principais técnicas modernas de extração de resíduos de agrotóxicos em alimentos.

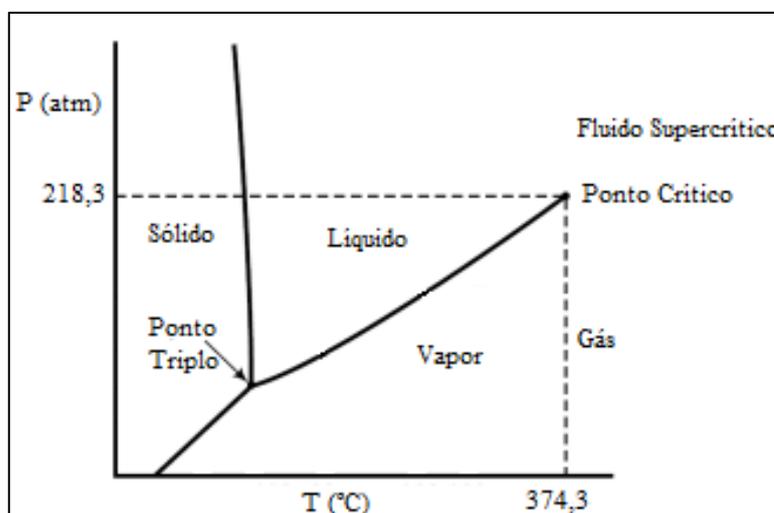
<b>Técnicas de extração</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>	<b>Referências</b>
Extração Assistida por Microndas (MAE)	Extração simultânea de diversas amostras; facilidade de operação; utiliza pequenas quantidades de solventes; tempo curto de extração.	Extração pouco seletiva; necessidade de limpeza do extrato; não pode ser utilizada para compostos termolábeis.	Holstege <i>et al.</i> , 1994; Papadakis <i>et al.</i> , 2006.
Extração Acelerada por Solventes (PLE)	Automação do processo de extração; tempo curto de extração; consumo moderado de solventes; simplicidade no preparo da amostra.	Custos elevados para aquisição e manutenção do equipamento; baixa seletividade de extração; não pode ser utilizada na extração de compostos termolábeis.	Singh <i>et al.</i> , 2004; Carabias-Martinez <i>et al.</i> , 2005; Giergielewicz-Mozajska <i>et al.</i> , 2001.
Dispersão da Matriz em Fase Sólida (MSPD)	Utilização de equipamentos simples; consumo moderado de solventes; simplicidade no preparo da amostra.	Não é apropriada para amostras secas ou com alto teor de lipídeos; alto consumo de solventes; em alguns casos há necessidade de limpeza adicional.	Ramos <i>et al.</i> , 2002; Barker, 2000.
Microextração em Fase Sólida (SPME)	Não utiliza solventes; possibilidade de reanalisar uma determinada amostra; fibra pode ser utilizada muitas vezes sem perda de adsorção; pode ser acoplada diretamente ao sistema cromatográfico.	Problemas de precisão; poucas fibras disponíveis comercialmente; morosidade na otimização do método; percentual de recuperação relativamente baixo.	Valsamaki <i>et al.</i> , 2006; Correia <i>et al.</i> , 2001; Pawliszyn, 1997.
Extração com Membrana Assistida por Solvente (MASE)	Introdução direta de amostras não tratadas; diminuição do uso de solvente; possibilidade de analisar amostras complexas; eliminação de interferências; elevado grau de pré-concentração do analito.	Baixa eficiência; sensível a contaminantes sólidos que podem obstruir os poros da membrana, ocasionando um prolongado tempo de análise para o preparo de amostra; tempo prolongado de análise.	Ling & Teng, 1997; Hyotylainen <i>et al.</i> , 2002; Jakubowska <i>et al.</i> , 2002.
Extração por Fluido Supercrítico (EFSC)	Consumo reduzido de solventes; possibilidade de extrair compostos termolábeis; não há degradação de compostos.	Custos elevados de aquisição e manutenção do equipamento; necessidade de limpeza do equipamento entre as extrações.	Abbas <i>et al.</i> , 2008; Lehotay, 2002; Camel, 1998; Ling & Teng, 1997.

Fonte: Adaptado de Prestes *et al.* (2011).

Assim, diante da imprescindibilidade de desenvolver uma metodologia extrativa de agrotóxicos que seja seletiva e que, ao mesmo tempo, não traga ao meio ambiente ainda mais impactos adversos, a tecnologia utilizando dióxido de carbono no estado supercrítico (CO<sub>2</sub>-SC), por ser considerada uma tecnologia verde, tem sido apontada como uma técnica promissora.

### 2.3.1 Extração com fluido supercrítico

O princípio da extração por fluido supercrítico baseia-se no fato de que uma variação mínima da pressão e da temperatura tem significativa influência no seu poder de solvência, visto que essas propriedades estão intrinsecamente relacionadas à densidade do fluido (MENDES, 2002). Este pode ser obtido por diferentes substâncias, desde que as mesmas estejam acima dos seus pontos críticos de pressão e de temperatura (PINTO *et al.*, 2006), compreendendo a região supercrítica, o que pode ser visualizado no diagrama de fases apresentado na Figura 5.



**Figura 5** - Diagrama P-T da água (Adaptado de Felder & Rousseau, 2005).

Nessa região supercrítica, o fluido apresenta propriedades particularmente interessantes como as características físicas inerentes à densidade, similar a de um líquido, o que lhe confere um elevado potencial de solubilização do soluto, e a baixa viscosidade, que atribui ao fluido alta difusividade e facilidade de transporte de massa, típicas de um gás (ASBAHANI *et al.*, 2015; TAYLOR, 1996; CAMEL, 1998; ZOUGAGH & VALCÁREL, 2004). Portanto, neste estado supercrítico, pode-se afirmar que o fluido adquire propriedades intermediárias entre líquido e gás.

Diante dessas características pertencentes a um fluido no estado supercrítico, é importante entender que o elevado poder de solvência ocasiona uma alta permeação do fluido na amostra, aumentando a probabilidade de uma extração (STUART *et al.*, 2006; ZOUGAGH *et al.*, 2004). Assim, devido às diversas vantagens que os fluidos supercríticos possuem - tais como: ausência de resíduos tóxicos no produto final; possibilidade de recuperação do solvente utilizado por meio de um acoplamento *on-line* do sistema; capacidade de dissolver substâncias no equilíbrio termodinâmico e alta seletividade (BRUNNER, 1994; ZOUGAGH *et al.*, 2004) - estes são especialmente úteis para a extração de valiosos compostos bioativos (como os aromatizantes, corantes e outras biomoléculas) (ASBAHANI *et al.*, 2015) ou aplicados com o intuito de remover compostos indesejáveis na matriz, bem como os poluentes

orgânicos, toxinas e agrotóxicos (MACHALOVA *et al.*, 2015; FORERO-MENDIETA *et al.*, 2012; CAMEL, 1998; LEHOTAY, 1997). Tal técnica é, então, utilizada principalmente quando se deseja extrair substâncias de interesse (analitos) de matrizes sólidas e, em ambos os casos supracitados, o substrato sólido pode ser tratado como uma matriz que é geralmente inerte ao solvente e ao soluto (analito) ou à mistura de solutos que formam o extrato.

A fim de obter resultados promissores com a EFSC, é primordial fazer um levantamento dos principais parâmetros que governam tal extração, tais como:

- Natureza da matriz: principalmente quanto à natureza dos sítios ativos, superfície específica, porosidade, polaridade e umidade (CHAUDOT *et al.*, 1996);
- Pressão: permite realizar uma extração seletiva (MCNALLY, 1995);
- Temperatura: apesar de um aumento dessa variável resultar na diminuição da densidade do fluido e, conseqüentemente, diminuir a sua solubilização no soluto que está fixo nos sítios ativos da matriz, uma elevação da temperatura resulta também em um aumento do rendimento de extração, devido a um aumento da energia térmica do sistema, facilitando a dessorção dos analitos presentes na matriz vegetal (MCNALLY, 1995);
- Natureza do solvente: imprescindível para determinar a escolha do melhor solvente, e tem como fatores apresentar baixos parâmetros críticos, baixos graus de toxicidade e de inflamabilidade e ser inerte, ou seja, ser não reativo (ASBAHANI *et al.*, 2015; ZOUGAGH *et al.*, 2004).

Dentre os fluidos supercríticos mais utilizados destaca-se o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), tendo em vista que este solvente abrange todas as propriedades supracitadas, além de ter a possibilidade de ser obtido com alto grau de pureza, apresentar baixo custo e ser gasoso em temperatura ambiente, favorecendo a separação do solvente e o analito extraído. Assim como outros solventes, o CO<sub>2</sub> ainda tem a possibilidade de ter a sua polaridade alterada pela adição de co-solventes orgânicos no processo (ZOUGAGH *et al.*, 2004; FORERO-MENDIETA *et al.*, 2012).

Diante do exposto, é notório que o CO<sub>2</sub> é o fluido supercrítico mais empregado e, devido a isso, são amplas as áreas de suas aplicabilidades, abrangendo desde a extração de óleos essenciais presentes em diferentes plantas e ervas, tais como orégano (IVANOVIC *et al.*, 2011), camomila (KOTNIK *et al.*, 2007), pimenta preta (KAZAZI *et al.*, 2007) e coentro (GROSSO *et al.*, 2008), até resíduos de agrotóxicos presentes em solo (FORERO-MENDIETA *et al.*, 2012; KREUZIG *et al.*, 2000) e em diversos alimentos (STEFANI *et al.*, 1997; KAIHARA, 2002; VALVERDE *et al.*, 2009; SAITO-SHIDA, 2014). A extração destes agentes químicos extremamente danosos ao meio ambiente e, em especial, à saúde humana, tem sido investigada intensamente devido às enormes conseqüências atreladas a sua ingestão, sendo por isso necessário desenvolver um método multiresíduo que seja capaz de ser seletivo para uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades e em níveis traços de concentração.

### **2.3.2 Extração de agrotóxicos presentes em matérias-primas alimentícias usando CO<sub>2</sub> supercrítico**

Diversos estudos junto da extração de agrotóxicos presentes em alimentos têm sido propostos nos últimos anos, utilizando a tecnologia com fluido supercrítico (TACCHEO *et al.*,

1985; AGNEESSENS *et al.*, 1984; AHARONSON *et al.*, 1994; LEHOTAY & VALVERDE-GARCIA, 1997; LANÇAS *et al.*, 1997; RISSATO *et al.*, 2004; RISSATO *et al.*, 2005; VALVERDE *et al.*, 2009). Lanças e colaboradores (1997) investigaram a presença de diversos agrotóxicos (dicofol, diuron, imidacloprido, 2,4-d, dicamba, clorotalonil e atabrom) em cereais, frutas, folhas, legumes e peixes. Para tanto, foi avaliado, neste estudo, a influência ou não de co-solventes na extração com CO<sub>2</sub>-SC (CO<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>/acetona; CO<sub>2</sub>/hexano), em diferentes condições de temperatura (70 - 100 °C) e pressão (100 - 150 bar) e as análises foram realizadas por cromatografia gasosa de alta resolução. A partir dos resultados encontrados, foi notório o favorecimento da extração de alguns compostos em detrimento de outros e, para todas as condições operacionais a qual o sistema foi submetido, a extração com fluido supercrítico se mostrou promissora quando comparada com a extração sólido-líquido, também avaliada neste trabalho.

Para Aharonson *et al.* (1994), a eficiência da extração com fluido supercrítico depende diretamente da natureza da matriz e de seu pré-tratamento e, por isso, estes autores estudaram a extração do agrotóxico Benzimidazol em banana, maçã e batata realizando um pré-tratamento com terra diatomácea, um agente secante que tem a capacidade de absorver a umidade contida nestes alimentos. Foram variadas três pressões (160, 400 e 510 bar) e três temperaturas (45, 60 e 75 °C) nos ensaios de EFSC, onde foi utilizado como modificador o metanol, a fim de alterar a polaridade do CO<sub>2</sub> potencializando a extração. Os resultados apontaram que as condições intermediárias de pressão (400 bar) e de temperatura (60 °C) foram as mais favoráveis à extração desse composto químico, chegando a uma eficiência de extração de até 90%.

Lehotay & Valverde-Garcia (1997) investigaram 57 agrotóxicos de cinco grupos químicos com distintas polaridades (organofosforados, organonitrogenados, carbamatos, piretróides e imidazol), presentes em laranja, batata doce e feijão verde. Utilizaram sulfato de magnésio hidratado como agente secante, mantiveram condições fixas de pressão (350 bar) e de temperatura (50 °C) e obtiveram resultados positivos, que variaram de 75 a 90% para todos os grupos e matrizes em estudo.

Já Rissato e colaboradores (2004), ao avaliarem 33 agrotóxicos dos grupos organofosforados, organonitrogenados, organohalogenados e piretróides presentes em mel, optaram por submeter essa matriz à liofilização. A extração foi avaliada variando a pressão (200, 400 e 600 bar) e a temperatura (40, 60 e 90 °C) e foi utilizada acetona como co-solvente. Esses autores perceberam que, ao aumentar a pressão de 200 a 400 bar, as eficiências aumentaram cerca de 20% para todos os compostos. Isso corrobora com o fato de que ao aumentar a densidade, aumenta-se o poder de solvatação do solvente e, consequentemente, aumenta-se a eficiência da extração. Entretanto, ao alterar a pressão de 400 para 600 bar, não foram obtidas extrações significativas dos analitos em relação à de 400 bar, sendo esta pressão considerada ótima para o processo. Já com relação à temperatura, à medida que esta foi aumentada, os agrotóxicos eram mais facilmente desorvidos e, portanto, a temperatura ótima determinada foi a de 90 °C. A partir dessas condições otimizadas, os autores obtiveram eficiências desde 75 a 100%.

Diante de todo o exposto, é possível perceber que essas metodologias buscam a redução, ou até mesmo, a eliminação dos principais problemas apresentados pelos métodos tradicionais de extração de resíduos de pesticidas, tais como o uso de solventes orgânicos. Nesses estudos, diversos fluidos extratores foram utilizados em condições supercríticas e as metodologias foram estabelecidas após profunda pesquisa dos parâmetros experimentais tais como pressão, temperatura e o uso ou não de modificadores. Porém, é importante frisar que, para cada matriz estudada, observa-se um comportamento distinto do processo extrativo, sendo imprescindível o estudo cauteloso dos parâmetros experimentais que devem compreender desde as etapas de preparo da amostra à coleta dos analitos.

## 2.4 Considerações Sobre a Revisão Bibliográfica

Diante do estudo realizado na revisão bibliográfica foi observado que somente um trabalho - proposto por Aharonson e colaboradores (1994) - foi encontrado na literatura visando à extração dos agrotóxicos presentes na banana por EFSC. Além disso, após o procedimento extrativo, não foi percebida quaisquer preocupações com relação ao uso do óleo extraído e nem tão pouco objetivando o reaproveitamento da biomassa após a extração. Este direcionamento da biomassa residual para uma suplementação alimentar é de grande importância, visto que este 'resíduo' contém um amplo número de compostos bioativos e que têm um potencial terapêutico evidente ao contribuir para as atividades antioxidantes, com propriedades valiosas à saúde humana.

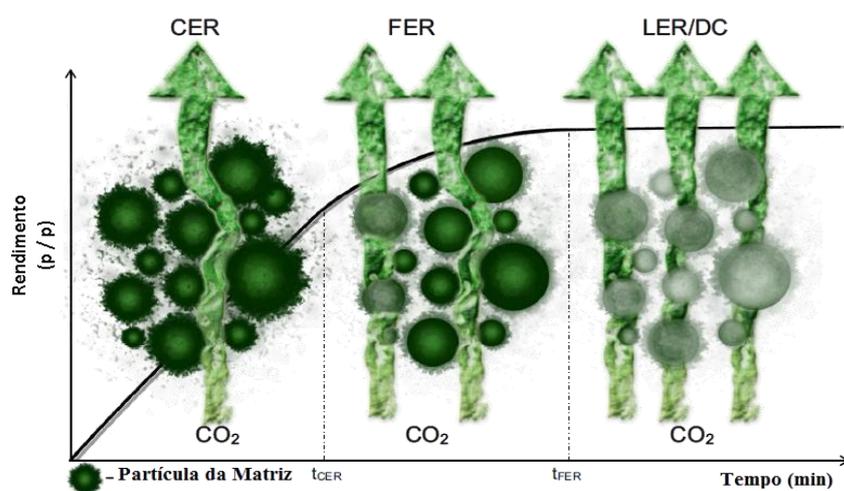
Além disso, até o presente momento, não há relatos na literatura do estudo da cinética de extração abrangendo cerca de 40 agrotóxicos presentes na *musa spp* por meio da extração por fluido supercrítico da farinha de banana verde liofilizada, com foco na avaliação da influência das condições operacionais, no rendimento e na cinética da extração do processo, bem como do estudo de modelagem neste sistema. Assim, estas inúmeras correlações mencionadas são normalmente limitadas ao sistema estudado e, para o caso específico do sistema *banana verde - agrotóxicos - CO<sub>2</sub>-SC*, não se tem ainda nenhuma correlação da cinética de extração disponível na literatura e, dessa forma, torna-se de grande importância o estudo do processo.

### 3 MODELAGEM MATEMÁTICA

Uma vez que há um crescente interesse por dados experimentais envolvendo o processo cinético de extração por fluido supercrítico, percebeu-se a necessidade de obter um maior entendimento do comportamento a ele atrelado por meio dos mecanismos fenomenológicos que englobam e dominam as etapas da cinética de extração. Isso se torna possível por meio da modelagem matemática, que tem como objetivo avaliar a influência dos parâmetros e a abordagem de cada modelo no ajuste das curvas de extração, a fim de auxiliar em estudos de aumento de escala, em estudos de simulação e em análise econômica.

#### 3.1 Cinética da Extração

As curvas de extração obtidas em processos com fluidos supercríticos são expressas pela massa de extrato gerada em função do tempo ou da massa de solvente utilizada (BRUNNER, 1994), podendo ser utilizadas na determinação de parâmetros como: tempo de extração, caracterização das etapas de EFSC, determinação da solubilidade e modelagem da transferência de massa do sistema (SILVA, 2008). Existem três períodos que caracterizam as curvas de extração (SOVOVA, 1994; MEZZOMO, MARTINEZ, FERREIRA, 2009; MINOZZO, 2012; MEIRELES *et al.*, 2013), sendo eles: período de taxa constante de extração; período de taxa decrescente de extração; e período difusional, que podem ser visualizados na Figura 6.



**Figura 6** - Curva de extração relacionando rendimento em função do tempo, caracterizando os três períodos distintos da extração (Adaptado de Silva *et al.*, 2016).

A primeira fase do processo extrativo é compreendida pelo período de taxa constante de extração (CER- *Constant Extraction Rate*), onde a superfície externa do sólido está completamente recoberta de soluto (acesso fácil do soluto) e a resistência à transferência de massa encontra-se na fase solvente. Nesta etapa, o mecanismo de transferência de massa por convecção é dominante. Na segunda etapa ocorre o período de taxa decrescente de extração (FER- *Falling Extraction Rate*), onde aparecem falhas nas camadas superficiais de soluto que recobrem o sólido. Neste período existe a concorrência entre a convecção e a difusão como mecanismos de transferência de massa, caracterizando o período mais demorado da extração.

A última etapa é compreendida pelo período difusional (LER/DC – *Low Extraction Rate / Difusion- Controlled*), onde a transferência de massa ocorre principalmente pela difusão do soluto no leito e dentro da partícula sólida devido ao esgotamento da camada superficial de soluto recobrando as mesmas.

Existem vários modelos na literatura que tentam representar essas três fases do processo de extração, como o modelo empírico de Esquivel *et al.* (1999), os modelos de Reverchon & Osseo (1994) e de Zeković (2003), que fazem analogia a transferência de calor, e o modelo de Sovová (1994), que se fundamenta nos fenômenos da transferência de massa. Todos os modelos citados foram usados com sucesso no grupo de pesquisa em que o tema desta dissertação está inserido e, devido a isso, esses modelos foram aplicados na presente pesquisa.

## 3.2 Modelagem Matemática

### 3.2.1 Modelo de Esquivel *et al.* (1999)

Os modelos empíricos são baseados na forma hiperbólica da CEG, são modelos locais e de fáceis resoluções. Um dos principais modelos empíricos é o proposto por Naik & Lentz (1989) e usado por Esquivel *et al.* (1999), para descreverem a EFSC de óleo de casca de oliveira. Este modelo utiliza uma função hiperbólica para ajustar os dados experimentais e apresenta a forma geral expressa pela Equação 1, que representa o rendimento da extração ( $e$ ) (calculado pela razão entre a massa de óleo recuperada em função do tempo e a massa inicial de carga livre de soluto) em função do tempo ( $t$ ) e possui apenas dois parâmetros de ajuste  $e_{lim}$  (representa o valor de “ $e$ ” para um tempo infinito de extração) e  $b$  (parâmetro ajustável dependente da vazão mássica, temperatura e pressão).

$$e = e_{lim} \left( \frac{t}{b + t} \right) \quad (1)$$

Segundo Pereira (2016), o parâmetro  $e_{lim}$  refere-se à quantidade inicial de substrato intrínseco a matriz em estudo, já o parâmetro  $b$  não apresenta um significado físico. Em geral, os modelos empíricos, como o modelo de Esquivel *et al.* (1999), não consideram interações entre o soluto e a matriz sólida e, portanto, carecem de interpretação física tornando-se difícil prever os seus parâmetros de ajuste. Assim, este modelo tem aplicação limitada em termos de *scale-up* e *design* de processo.

Apesar disso, vários trabalhos envolvendo o modelo de Esquivel *et al.* (1999) têm sido desenvolvidos com sucesso para o processo de extração usando fluido supercrítico. Souza (2015) estudou a modelagem das curvas de extração supercrítica do óleo da microalga *Desmodesmus sp.* obtidas experimentalmente. Os resultados apontaram uma boa correlação do modelo em toda a curva de extração, com baixos desvios que variaram de 2,1742% a 14,3327%.

Pereira (2016), ao modelar os resultados da extração de éster de forbol a partir da torta de pinhão manso com fluido supercrítico, avaliou se o modelo de Esquivel *et al.* (1999) se ajustava aos seus dados experimentais. Neste trabalho, foi verificado que os valores estimados para o  $e_{lim}$  foram próximos a praticamente todas as condições operacionais, gerando desvios de 3,42 a 17,20%.

Vladić *et al.* (2016) modelaram com sucesso a cinética de extração dos extratos obtidos da *Satureja montana* sob diferentes parâmetros do processo usando fluido supercrítico com o modelo de Esquivel *et al.* (1999) e um modelo baseado em difusão em uma fase. Esses

autores concluíram que o modelo de Esquível *et al.* (1999) obteve maior concordância com os dados experimentais em detrimento do outro.

Diante disso, torna-se evidente que o modelo empírico de Esquível *et al.* (1999) tem sido empregado para descrever as cinéticas de extração com fluido supercrítico a partir de diferentes matérias-primas, apresentando um bom ajuste aos dados experimentais.

### 3.2.2 Modelo de Reverchon & Osseo (1994) e Zeković *et al.* (2003)

Na categoria que faz analogia à transferência de calor, considera-se uma correlação entre a EFSC e a transferência de calor por difusão. Neste caso, admite-se que todas as transferências de massa ocorram somente por meio do mecanismo de difusão, permitindo obter um coeficiente de difusão aparente (BRUNNER, 1999).

Um exemplo clássico dessa categoria de modelagem é o modelo apresentado por Reverchon & Osseo (1994), que foi fundamentado nos balanços de massa macroscópicos da fase fluida e da fase sólida ao longo de todo o leito de extração. Tal modelo foi utilizado para calcular o rendimento em óleo de soja da extração supercrítica. Para tanto, tais autores estabeleceram algumas condições de contorno para o sistema, tais como: a extração foi considerada uniforme ao longo do leito, permitindo transformar o balanço de massa em duas equações diferenciais ordinárias; a resistência externa à transferência de massa e o perfil de concentração na fase gasosa foram desprezados; a distribuição dos tamanhos de partícula foi inserida nos cálculos ao invés do tamanho médio, assim como a geometria da partícula, considerada como sendo esférica; utilizou-se a hipótese de que o tempo de extração é muito maior que o tempo de residência e o acúmulo na fase fluida foi desprezado, simplificando o modelo que passou a ter uma solução analítica. Após terem sido consideradas todas as simplificações supracitadas, o modelo descreve a CEG de acordo com a Equação 2.

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp \frac{-k_p t}{\frac{(1-\varepsilon)V\rho}{w} + k_p t_i} \right] \quad (2)$$

sendo Y o rendimento normalizado da extração (%);  $\varepsilon$  a porosidade do leito do material; V o volume do extrator ( $m^3$ );  $\rho$  a densidade do fluido ( $kg/m^3$ ); W a vazão de solvente ( $kg.s^{-1}$ );  $K_p$  o coeficiente de partição volumétrica do extrato entre a fase sólida e fluida no equilíbrio;  $t_i$  o tempo de difusão interna (s) e t o tempo de extração (s).

Entretanto, ao considerar que o termo  $(1-\varepsilon)V\rho/W$  é muito menor que  $k_p t_i$ , a expressão pode ser negligenciada e a Equação 2 é simplificada para a Equação 3, referente a expressão matemática final do modelo de Reverchon & Osseo (1994).

$$Y = 100 \left[ 1 - \exp \frac{t}{t_i} \right] \quad (3)$$

sendo Y o rendimento normalizado da extração (%), obtido pela relação entre o rendimento de extração pelo rendimento máximo de extração, multiplicado por 100;  $t_i$  o tempo de difusão interna (s), sendo o parâmetro de estimação do modelo; e t o tempo de extração (s).

Através da Equação 4, é possível calcular o rendimento normalizado da extração ( $Y$ ), sendo  $y$  o rendimento de extração e  $y_{\max}$ , o rendimento máximo de extração.

$$Y = 100 \times \frac{y}{y_{\max}} \quad (4)$$

Com isso, a difusividade interna no sólido foi utilizada como parâmetro de ajuste do modelo de Reverchon & Osseo (1994) aos dados experimentais da extração de óleo de soja com CO<sub>2</sub>-SC.

Por sua vez, Zeković e colaboradores (2003) consideraram que para certos sistemas de extração, o tempo de difusão interna ( $t_i$ ) pode ser considerado como uma constante evitando dessa maneira, a avaliação dessa variável no modelo. Com isso, a Equação 3 pode ser modificada e o modelo passa a ser descrito pela Equação 5, conhecida como forma modificada do modelo de Reverchon & Osseo.

$$Y = 100 [1 - \exp(-at - b)] \quad (5)$$

sendo  $Y$  o rendimento normalizado de extração (%);  $t$  o tempo de extração (s);  $a$ , uma constante e  $b$  o termo de correção.

O modelo Reverchon–Sesti Osseo tem sido empregado em vários estudos envolvendo a extração de óleo de manjerição (REVERCHON & OSSEO, 1994), tomilho (ZEKOVIĆ *et al.*, 2003), lavanda (REVERCHON & PORTA, 1995), ésteres de forbol (PEREIRA, 2016; MIČIĆ *et al.*, 2015), microalgas (SOUZA, 2015), entre outros.

Mičić *et al.* (2015) e Pereira (2016) realizaram a cinética da extração supercrítica do óleo das sementes do pinhão manso utilizando os modelos de Reverchon & Osseo (1994) e Zeković *et al.* (2003). Em ambos os estudos, os autores obtiveram baixos desvios para os modelos, que apresentaram boa concordância com os dados experimentais.

Souza (2015) empregou tais modelos às curvas de cinética de extração do óleo da microalga *Desmodesmus sp.* e verificou que tanto o modelo de Reverchon & Osseo (1994) quanto o de Zeković *et al.* (2003) mostraram-se aptos para representar a extração supercrítica do processo extrativo estudado.

Diante dessas constatações, é notório que esses modelos tendem a se ajustarem aos dados experimentais obtidos a partir do processo de extração usando fluido supercrítico, sendo de grande importância os estudos e aplicações desses modelos para o *scale-up* do processo.

### 3.2.3 Modelo de Sovová (1994)

Em se tratando dos modelos que se fundamentam nos balanços de massa, é possível alcançar os perfis de concentração dependentes do tempo para a integração de fase fluida e sólida, sendo que a curva de extração é posteriormente calculada a partir da concentração de soluto na corrente de saída do extrator. Segundo Rosa e Meireles (2009), esta categoria compreende a maioria dos modelos matemáticos propostos para a descrição do processo de EFSC e, geralmente, cada autor apresenta uma interpretação pessoal dos fenômenos de transferência de massa que ocorrem nas fases fluida e sólida.

O modelo apresentado por Sovová (1994) descreve o processo de extração a partir de sementes moídas, onde o soluto é caracterizado por duas frações: a primeira refere-se às células quebradas – denotadas como o soluto facilmente acessível ( $x_p$ ), que está localizado na

superfície da partícula e é a primeira fração extraída – e a segunda refere-se às células intactas – designadas como soluto ( $x_k$ ) e está localizado dentro da partícula sólida (ROSA & MEIRELES, 2009; FERREIRA & MEIRELES, 2002) – sendo desenvolvido para aplicação quando a matéria-prima é submetida a um processo de moagem antes da extração. Esse modelo, relativamente simples, tem sido utilizado por diversos autores e divide a curva de extração em três regiões distintas: a primeira fase, representada pela taxa de extração constante, é controlada pelo equilíbrio termodinâmico entre solutos e solventes e a transferência de massa externa; a segunda fase é a única não linear e representa o período em que as transferências de massa interna e externa controlam o processo de extração, havendo uma disputa entre elas sendo, por essa razão, a etapa mais demorada e a última é caracterizada pela difusão interna controlada.

Em seu modelo, Sovová (1994) relacionou esses três períodos que compreendem a EFSC, combinando-os em equações representadas para um único modelo com solução analítica. As equações que descrevem o modelo são:

$$e = \begin{cases} qy_r[1 - \exp(-z)], & \text{se } q < q_m \\ y_r[q - q_m \exp(z_m - z)], & \text{se } q_m \leq q < q_n \\ x_0 - \frac{y_r}{w} \ln \left\{ 1 + \left[ \exp\left(w \frac{x_0}{y_0}\right) - 1 \right] \exp[w(q_m - q)] \frac{x_k}{x_0} \right\}, & \text{se } q \geq q_n \end{cases} \quad (6)$$

$$q_0 = \frac{(x_0 - x_k)}{y_r z} \quad (7)$$

$$q_n = q_m + w^{-1} \ln \frac{x_k + (x_0 - x_k) \exp\left(w \frac{x_0}{y_r}\right)}{x_0} \quad (8)$$

$$\frac{z_w}{z} = \frac{y_r}{w x_0} \ln \frac{x_0 \exp[w(q - q_m)] - x_k}{x_0 - x_k} \quad (9)$$

sendo  $x_0$  a quantidade máxima possível de sólido extraído,  $q$  a quantidade específica de solvente,  $y_r$  a solubilidade,  $Z$  o parâmetro do período de extração rápida e  $W$  o parâmetro do período de extração lenta.

De acordo com Diaz e Brignole (2009), o modelo de Sovová tem sido empregado para diversas aplicações na extração de solutos a partir de diferentes matrizes. Para Lu *et al.* (2007), este modelo é um dos mais bem sucedidos, uma vez que foi aplicado com sucesso na extração de uma variedade de produtos naturais, incluindo óleos essenciais (BERNA *et al.*, 2000), óleos de sementes (PAPAMICHAIL *et al.*, 2000) e óleo de casca de oliveira (ESQUÍVEL *et al.*, 1999), utilizando  $\text{CO}_2$  supercrítico.

Mezzomo *et al.* (2009) utilizaram o modelo de Sovová para descreverem as curvas de extrações globais obtidas com a extração supercrítica do óleo de amêndoas de pêssego, por ensaios de pequena e grande escala. O modelo apresentou um bom ajuste para todas as curvas, em ambas as escalas.

Sodeifian *et al.* (2016) realizaram a extração do óleo de *Pistacia khinjuk* utilizando dióxido de carbono supercrítico e empregaram o modelo proposto por Sovová para descrever

o comportamento desse processo. Os rendimentos de extração previstos pelo modelo concordaram adequadamente com os dados experimentais para todas as condições investigadas.

Pereira (2016), além de estudar os modelos empíricos de Esquível *et al.* (1999), Reverchon & Osseo (1994) e Zeković *et al.* (2003), também aplicou o modelo de Sovová (1994) para descrever o comportamento dos dados experimentais obtidos pela extração supercrítica do éster de forbol. A autora constatou que todos os modelos investigados correlacionaram com sucesso os dados experimentais, porém o modelo de Sovová (1994) foi o que melhor se ajustou aos resultados da extração, apresentando menores desvios.

É importante deixar claro que existem na literatura diversos modelos propostos por diferentes autores, dos quais variam dos modelos altamente complexos - que se fundamentam nos balanços de massa, como o modelo proposto por Sovová (1999) - aos extremamente simples, como os modelos empíricos. Assim, a determinação do modelo mais adequado deve levar em consideração a natureza da matriz e o solvente em estudo, além do propósito da investigação em questão.

### 3.3 Modelo de Solubilidade

Além da importância dos modelos matemáticos que estão relacionados à cinética de extração, os modelos que representam a solubilidade do composto a ser extraído no fluido supercrítico são essenciais ao processo extrativo. Tais modelos visam correlacionar e prever o máximo que um composto pode ser dissolvido pelo solvente, para uma determinada condição de temperatura e pressão.

Segundo Higashi *et al.* (2001), há diversas maneiras de correlacionar a solubilidade de compostos com elevado peso molecular em dióxido de carbono supercrítico, sendo por meio de equações empíricas, equações de estado, modelos de solução ou simulação molecular.

O modelo de Chrastil (1982) foi um dos primeiros modelos semi-empíricos publicados com o intuito de ajustar os dados de solubilidade de sólidos em CO<sub>2</sub>-SC (TABERNERO *et al.*, 2003). Uma vez que este modelo não apresenta a complexidade daqueles baseados nas equações de estado e que, comumente, apresenta boa predição da solubilidade de extratos em CO<sub>2</sub>-SC, este modelo foi utilizado nesta dissertação para prever a solubilidade dos agrotóxicos em CO<sub>2</sub>-SC.

Basicamente, o modelo de Chrastil (1982) é fundamentado no equilíbrio entre o sólido e o fluido, de modo a formar um complexo. Diante desse pressuposto, estabeleceu-se uma relação entre a solubilidade do sólido S (mg do soluto/L de solução) e a densidade do fluido  $\rho$  (mg/L), a uma dada temperatura T (K), de acordo com a Equação 10, incluindo três parâmetros (k, a e b), que são calculados por regressão de dados experimentais.

$$S = \rho^k \exp\left(\frac{a}{T} + b\right) \quad (10)$$

De acordo com Chrastil (1982), esta equação aborda dois fenômenos intrínsecos ao processo de extração: as representações da solubilidade e da pressão de vapor do soluto. A primeira parcela é exposta pelo termo  $\rho^k$  e está diretamente relacionada com o poder de solvência do fluido. Já o segundo termo da equação,  $\exp(-a/T + b)$ , revela que com a elevação da temperatura de extração, aumenta-se também a pressão de vapor do soluto.

Na literatura são encontrados alguns trabalhos que utilizaram o modelo de Chrastil (1982) para prever a solubilidade de agrotóxicos em CO<sub>2</sub>-SC, como o apresentado por Ciou e Su (2016). Neste trabalho, os autores mediram as solubilidades do herbicida diuron em CO<sub>2</sub>-

SC, nas condições de 10 a 20 MPa a 308,2, 318,2 e 328,2 K, utilizando uma fração molar do pesticida entre  $8,72 \cdot 10^{-7}$  e  $1,63 \cdot 10^{-5}$ . Os dados de solubilidade medidos foram correlacionados utilizando três modelos termodinâmicos: equação de Chrastil, equação de Mendez-Santiago e Tile, e modelo de solução regular acoplado à equação de Flory-Huggins. Estes modelos produziram resultados satisfatórios com desvios médios relativos inferiores a 6%, sendo que o modelo de Chrastil foi o que obteve o menor desvio relativo, de 3,4%.

Knez e colaboradores (1998) usaram duas equações diferentes para correlacionar a solubilidade de derivados de triazina, ou seja, ametrina, prometrina, atrazina e simazina em CO<sub>2</sub> supercrítico, das quais uma delas foi a equação de Chrastil. Para tanto, esses autores variaram a pressão de 100 a 300 bar e a temperatura de 40, 60 e 80 °C. Verificou-se que ambos os modelos tiveram uma boa correlação com os dados experimentais, sendo que para o modelo de Chrastil os desvios relativos variaram de 30,79% a 10,41%.

Cui e colaboradores (2014) investigaram a solubilidade do 2,3,5,6-tetracloropiridina (TCP) em CO<sub>2</sub>-SC. Este produto intermediário para a síntese de pesticidas foi submetido a um método analítico estático a 313 K, 323 K e 333 K e pressões variando de 10,0 MPa a 24,0 MPa. Os dados experimentais foram correlacionados utilizando quatro modelos baseados em densidade (Chrastil, Mendez-Santiago e Teja, Bartle, e Kumar e Johnston), respectivamente. Os resultados calculados mostraram boa concordância com os dados experimentais, sendo que o modelo de Chrastil foi o que teve menor desvio, de 5,73%, representando melhor os dados experimentais.

Portanto, nota-se que apesar de simples, o modelo compreende o comportamento fenomenológico do qual o processo está inserido. Muito devido a essa simplicidade, esse modelo tem sido amplamente utilizado para prever a solubilidade de sólidos em CO<sub>2</sub>-SC, sendo um importante modelo, uma vez que pode auxiliar na escolha das melhores condições de temperatura e pressão a serem empregadas no processo de extração.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo será apresentada a unidade experimental presente no Laboratório de Termodinâmica Aplicada e Biocombustíveis (LTAB), utilizada para promover a extração dos agrotóxicos contidos na banana Vitória (*Musa spp*), visando aplicar os modelos cinéticos de extração desses analitos intrínsecos à matéria-prima (farinha de banana verde produzida por liofilização). Além dos equipamentos utilizados, serão abordados os materiais, os métodos e as análises químicas e cromatográficas empregadas, sendo estas realizadas no Laboratório de Agrotóxicos do INCQS (FIOCRUZ-RJ).

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 Matéria-prima

Foram coletadas 36 unidades de banana verde do cultivar Vitória, obtidas na fazenda Souza, que produz bananas orgânicas no interior do município de Alfredo Chaves, Espírito Santo. A banana híbrida do tipo tetraploide (AAAB) foi coletada retirando-se seis frutas de cada cacho (superior, mediana e inferior) referentes a seis plantas representativas da área, colhidas em uma mesma data e lote, evitando-se assim a influência de variações da época do plantio, do solo e do clima. Selecionaram-se frutas de tamanhos grandes e pequenos, conforme procedimento da resolução nº 4 da Anvisa, de 18 de janeiro de 2012. As amostras foram mantidas sob refrigeração e ao abrigo de luz até o seu processamento.

Posteriormente à coleta, mensurou-se a massa das bananas verdes (frutas inteiras), de aproximadamente, 4 kg. As bananas foram submetidas à lavagem em solução de água e sabão neutro. Logo após, foram descascadas manualmente com faca de aço inox e, imediatamente, expostas à inibição enzimática, através da imersão das cascas e polpas em água filtrada com gelo, mantendo a temperatura próxima a 0 °C. Esse procedimento foi realizado para não haver a ativação da enzima polifenoloxidase, que favorece o escurecimento da fruta.

Ainda sob efeito da inibição enzimática, as polpas foram processadas em cortador doméstico de frios, mantendo a espessura de cada fatia em torno de 1 mm. As cascas foram cortadas verticalmente mantendo-se a espessura em até 2 cm. Em seguida, as amostras foram distribuídas em bandejas de alumínio, conforme ilustra a Figura 7.



**Figura 7** - Polpas (A) e Cascas (B) processadas após inibição enzimática

Após serem processadas, as amostras foram refrigeradas em freezer à - 90 °C (Thermo, EUA) durante 48 horas e submetidas a um ciclo de liofilização por 24 horas, em

aparelho liofilizador K105 (Liotop, BRASIL), presentes no Laboratório de Microbiologia do INCQS (FIOCRUZ).

Posteriormente à desidratação, armazenou-se o material na geladeira em recipientes de vidro hermeticamente fechados, para ser triturado em liquidificador doméstico e peneirado utilizando peneiras da série de Tyler (de 18 a 100 mesh), com o intuito de fracionar os diferentes tamanhos de partículas. As farinhas produzidas são mostradas na Figura 8.



**Figura 8** - A. Farinha da polpa e B. farinha da casca da banana Vitória (*Musa spp*).

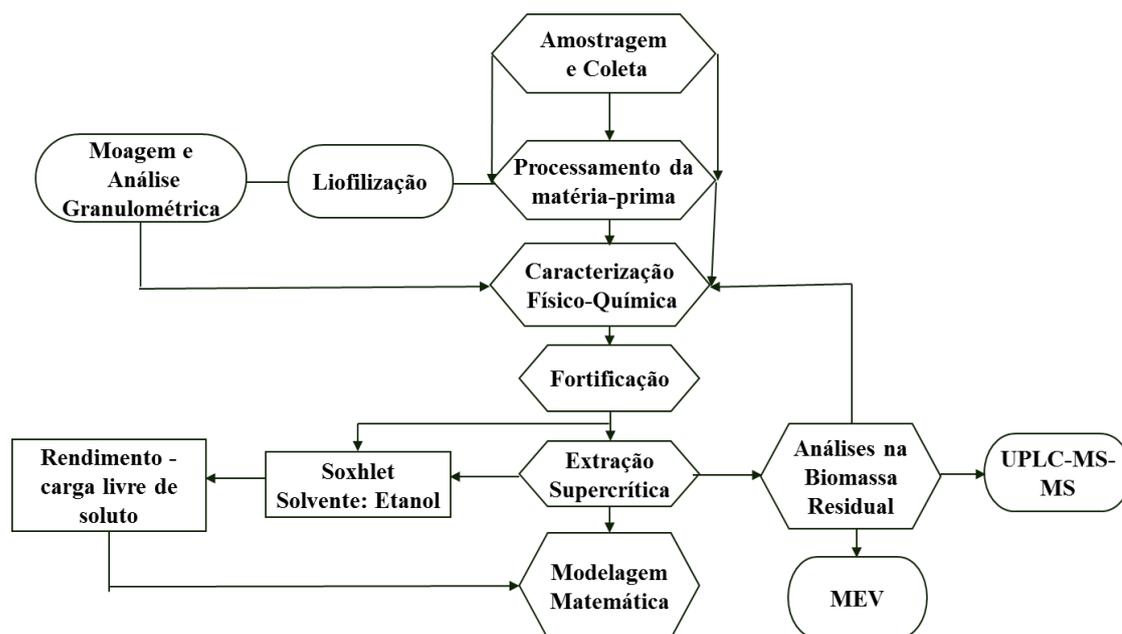
As amostras retidas nas peneiras de 32, 48, 60 e 80 mesh tiveram suas massas mensuradas em balança analítica (Shimadzu AUY220, Incerteza:  $\pm 0,003$  g), misturadas, identificadas e acondicionadas (frascos de vidro supracitados) para posterior determinação do diâmetro médio das partículas. As farinhas foram armazenadas em refrigerador doméstico até serem utilizadas para obtenção do extrato.

#### 4.1.2 Solventes

Os solventes utilizados nas extrações foram o dióxido de carbono (mínimo de pureza de 99,998%, White Martins e Air Products) para a extração supercrítica e para a extração convencional (Soxhlet), álcool etílico P.A., adquirido da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brasil). Assim como este, os demais solventes utilizados para as análises da composição centesimal foram provenientes desta empresa, sendo eles: ácido sulfúrico P.A., ácido clorídrico (0,04 N), ácido nítrico P.A., solução de ácido bórico (4% v/v), solução de hidróxido de sódio (40% v/v) e éter de petróleo P.A. Utilizou-se metanol, grau HPLC (Merck – Hexagono Química e Equipamentos Ltda), para o preparo da solução estoque com cerca de 200 agrotóxicos (gentilmente doada pelo Laboratório de Agrotóxicos do INCQS) e para as análises dos mesmos, realizadas no UPLC, disponibilizado também pelo INCQS (FIOCRUZ-RJ).

#### 4.2 Métodos

O procedimento experimental aplicado a este estudo desenvolveu-se através de uma série de etapas e, para melhor compreensão do processo, um diagrama-esquemático das mesmas está apresentado na Figura 9.



**Figura 9** - Esquema-resumo das etapas experimentais.

#### 4.2.1 Preparo da amostra

O processo de desidratação aplicado à matriz, através da técnica de liofilização, é primordial para a extração com CO<sub>2</sub>-SC, visto que a água impede que os analitos sejam extraídos. Com isso, a água se torna um entrave ao processo, sendo extraída em detrimento do extrato da biomassa, diminuindo o rendimento do processo.

É importante ressaltar ainda que a matriz em estudo foi submetida inicialmente a uma análise cromatográfica, onde foi comprovada a ausência de agrotóxicos na mesma. A matéria-prima, naturalmente orgânica, passou por um processo de fortificação com solução estoque contendo os princípios ativos, de aproximadamente, 200 agrotóxicos de diferentes classes químicas, diluídos em metanol, obtendo concentrações em torno de 0,8 µg.mL<sup>-1</sup>.

Entretanto, apenas 27 desses agrotóxicos serão investigados neste estudo, visto que os mesmos são os mais aplicados na banana, conforme o relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015 (ANVISA, 2016). Neste relatório foram detectados 23 agrotóxicos diferentes dentre os 157 pesquisados. Os agrotóxicos Imidacloprido (32 amostras), carbendazim (28 amostras) e tiabenazol (12 amostras) foram os que apresentaram maior número de detecções nas amostras analisadas, sendo estes também avaliados neste trabalho. A lista completa dos 27 agrotóxicos analisados e os que estão presentes na solução intermediária estão nos Anexo I e Anexo II, respectivamente.

Dentre essas substâncias químicas de referência de agrotóxicos (SQRAs) presentes na mistura, 165 foram preparadas com padrões da marca Dr. Ehrenstorfer-Augsburg (Alemanha) e 16 com padrões da marca AccuStandard (Estados Unidos). Em relação ao grau de pureza, 164 SQRAs apresentavam pureza superior a 97%, 15 apresentavam pureza entre 90 e 97% e apenas duas substâncias apresentavam pureza inferior a 90%: etrinfós (60%) e triazofós (76%). O percentual de pureza é utilizado no cálculo das concentrações da solução preparada com as SQRAs.

O processo de fortificação, isto é, contaminação sintética da banana orgânica pelos agrotóxicos, procedeu-se da seguinte forma: a solução estoque, que contém os agrotóxicos diluídos em metanol, é armazenada impreterivelmente em freezer a fim de manter os compostos termolábeis estáveis. Então, inicialmente a solução estoque deve ser retirada da

refrigeração até atingir a temperatura ambiente, para assim ser utilizada e, imediatamente, armazenada. Vale ressaltar que antes do processo extrativo, é fundamental aguardar um tempo para que os agrotóxicos estejam homogêneamente integrados à farinha, e assim simular um processo real refletindo nas frutas que estão no mercado, naturalmente contaminadas pelos agrotóxicos.

Nesse contexto, a fim de determinar o tempo ideal de repouso da matriz fortificada com os agrotóxicos supracitados, realizou-se um teste preliminar do qual foram avaliados dois tempos de repouso após a fortificação: 15 minutos (tempo mínimo necessário para que toda a matriz interagisse com os agrotóxicos) e de 18 horas (tempo suficiente para a completa volatilização do metanol, permanecendo apenas os agrotóxicos na matriz). Diante desse estudo preliminar, foi nítida a interferência do metanol na extração com CO<sub>2</sub>-SC e, devido a isso, foi estabelecido um período de contato entre os analitos e a matriz por *overnight* (faixa de 18 horas), tempo necessário para que o metanol se volatilizasse, não interferindo no processo extrativo.

#### 4.2.2 Diâmetro médio das partículas

O diâmetro médio das partículas ( $d_p$ ) foi determinado como parte da caracterização da matéria-prima, sendo essa uma importante variável para o processo de extração por fluido supercrítico. Como regra geral, diminuindo-se o tamanho de partícula de matrizes sólidas obtém-se uma maior área superficial, de modo que a extração seja mais eficiente. No entanto, uma moagem excessiva pode prejudicar a extração, devido à reabsorção dos analitos nas superfícies da matriz (CAMEL, 1998).

A escolha da faixa granulométrica para as partículas da matéria-prima foi embasada na teoria exposta por Camel (1998) e foi estabelecida entre as aberturas das peneiras de 32, 48, 60 e 80 mesh. Para tanto, o material usado nos experimentos de extração foi submetido à análise granulométrica, fazendo uso de peneiras da série Tyler.

O diâmetro médio das partículas foi calculado de acordo com a Equação (11), do qual é obtido o diâmetro médio de Sauter.

$$d_p = \frac{1}{\sum \frac{m_i}{d_{pi}}} \quad (11)$$

sendo  $m_i$  a fração mássica retida na malha e  $d_{pi}$  o diâmetro médio entre as malhas que a reteve ( $d_{\#}$ ) e a que deixou passar ( $d_{\#+1}$ ), conforme apresentado na Equação (12).

$$d_{pi} = \frac{d_{\#} + d_{\#+1}}{2} \quad (12)$$

Além do uso das peneiras Tyler, o diâmetro médio também foi medido usando o Malvern (Mastersizer 2000 Hydro 2000 UM), presente no Laboratório de Escoamento de Fluidos (LEF) da UFRRJ, a fim de atingir maior precisão na medida do tamanho das partículas das farinhas de casca e polpa da *Musa spp*.

Tal equipamento tem a capacidade de analisar uma faixa analítica de 0,04 a 2000  $\mu\text{m}$ , utilizando para tanto a técnica de difração a laser, que determina a distribuição do diâmetro médio de partículas através da função do ângulo de espalhamento apresentado. Os resultados

são gerados em percentual relativo de volume de material distribuído em uma ampla faixa de tamanho que compõem as bandas do detector.

### 4.2.3 Caracterização química da matéria-prima

A caracterização físico-química da farinha de banana verde com casca foi realizada no Laboratório do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRRJ, em triplicata, e analisada quanto aos teores de umidade (AOAC, 1997), proteína (AOAC, 1997), lipídios (Instituto Adolfo Lutz, 2005), cinzas (AOAC, 1997) e carboidratos totais (AOAC, 1997).

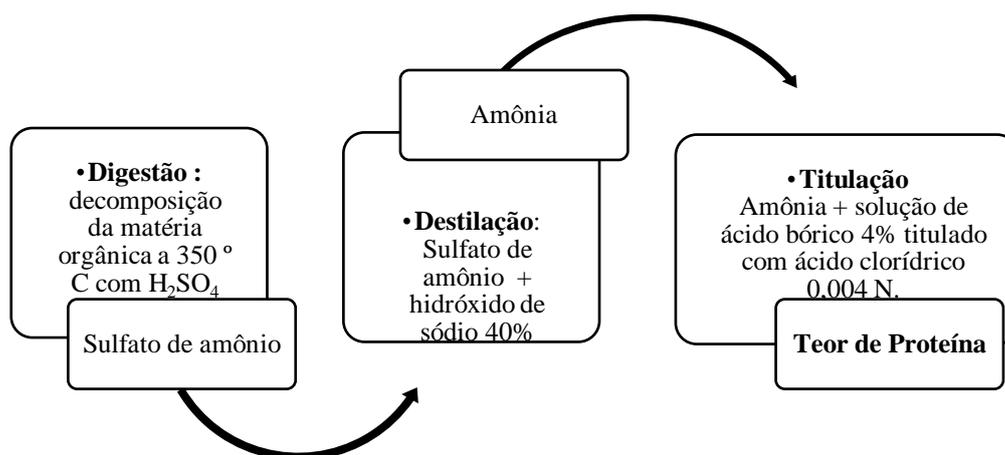
Tais informações são importantes uma vez que ainda não foram publicadas na literatura as características específicas dessa *Musa spp* após ter sido submetida à liofilização. Além disso, foram realizadas análises da composição centesimal na biomassa residual oriunda do processo de extração com fluido supercrítico, a fim de verificar se após a EFSC ocorreram perdas dos compostos bioativos.

#### 4.2.3.1 Umidade

A umidade da biomassa de banana verde foi determinada através do método gravimétrico com emprego de calor, baseando-se na perda de peso do material submetido ao aquecimento em estufa a 105 °C até peso constante, segundo a metodologia da AOAC (1997). O percentual de umidade foi obtido através da diferença entre a massa da amostra antes e após a secagem.

#### 4.2.3.2 Proteínas

A proteína bruta foi obtida pela determinação da porcentagem de nitrogênio total da amostra, segundo o método de Kjeldahl (AOAC, 1997), que determina indiretamente o teor de proteínas em uma ampla faixa de amostras biológicas (NOGUEIRA & SOUZA, 2005). Este método baseia-se em três etapas, sendo elas a digestão, a destilação e a titulação, conforme o esquema-resumo mostrado na Figura 10.



**Figura 10** - Fluxograma do processo de determinação do teor de proteína, dividido em três etapas.

Na digestão, há a decomposição da matéria orgânica através do aquecimento da amostra a 350 °C, com ácido sulfúrico concentrado formando sulfato de amônio. Na destilação ocorre a purificação deste sal através do tratamento com solução de hidróxido de

sódio 40%, formando amônia (volátil); e na titulação, há a quantificação volumétrica deste gás que foi recolhido em solução de ácido bórico 4%, utilizando para isso ácido clorídrico 0,004 N. Por fim, o teor de proteína é obtido pela multiplicação de um fator de conversão, baseado no percentual médio de nitrogênio nas proteínas dos alimentos.

#### 4.2.3.3 Lipídios

A metodologia empregada foi realizada utilizando Soxhlet. Nesta etapa experimental, colocou-se a amostra de farinha em um cartucho de celulose (número 43) e este foi alimentado no extrator com, aproximadamente, 8 gramas da biomassa previamente mensurada (45% da casca e 55% da polpa, proporção equivalente a uma fruta inteira) (Shimadzu AUY220, Incerteza:  $\pm 0,003$  g). Posteriormente, foram adicionados 100 mL de solvente (éter de petróleo) a um balão volumétrico de 250 mL. O equipamento foi aquecido em manta (Fisatom 300-52E) e permaneceu, sob refluxo, por um tempo pré-determinado. O solvente contido no balão evapora e se condensa sobre o material sólido devido à presença de um condensador acoplado ao extrator. Posteriormente, o solvente retorna para o balão e entra novamente em ebulição recomeçando o ciclo. Ao final, os solutos são concentrados no balão, ressuspensos e adicionados a um frasco âmbar, para então serem armazenados em freezer até a análise.

O éter de petróleo foi utilizado como solvente a fim de quantificar os lipídios totais, uma vez que estes apresentam características químicas semelhantes e, portanto, interagem entre si. O tempo de extração foi de 7 horas e a extração foi realizada em triplicata.

#### 4.2.3.4 Cinzas

O resíduo mineral fixo (RMF) foi determinado por carbonização com, aproximadamente, 1,5 g da farinha de banana verde (casca e polpa), previamente mensuradas em cadinhos de porcelana, em forno mufla (Fornitec) a 550 °C, até que não houvesse mais pontos pretos no resíduo calcinado. Os cadinhos foram retirados da mufla e colocados no dessecador para esfriar por, pelo menos, 30 minutos, a fim de mensurar a massa novamente e calcular o percentual RMF, determinado através da diferença entre a massa da amostra antes e após a incineração.

#### 4.2.3.5 Carboidratos

A determinação de carboidratos totais ( $C_T$ ) foi quantificada pelo método de NIFEXT (extrato livre de nitrogênio), que compreende os carboidratos mais digeríveis, e foi obtida considerando-se a soma das outras frações determinadas (umidade, lipídeos, proteína e cinzas) e diminuindo do total, considerando-o 100%, conforme apresentado na Equação 13.

$$C_T = 100\% - (\%umidade + \%lipídeos + \%proteínas + \%cinzas) \quad (13)$$

#### 4.2.4 Densidade aparente do leito e porosidade do leito

A densidade aparente do leito ( $D_a$ ) foi calculada pela relação entre a massa da matriz utilizada para empacotar o leito ( $m_e$ ) e o volume do leito no extrator ( $V$ ), conforme Equação 14.

$$D_a = \frac{m_e}{V} \quad (14)$$

Já a porosidade do leito foi determinada de acordo com a Equação 15, que relaciona o volume de vazios pelo volume total.

$$\varepsilon = \frac{V_1 - V_s}{V_1} \quad (15)$$

em que  $\varepsilon$  é a porosidade do leito;  $V_1$  o volume ocupado pelo leito e  $V_s$  o volume ocupado pelo sólido.

#### 4.2.5 Procedimento experimental para extração convencional

A extração de agrotóxicos presentes na farinha de banana verde foi realizada por Soxhlet como método convencional. O processo total de extração proposto é relatado no item 4.2.3.3, porém, neste caso, utilizou-se como solvente etanol. Vale ressaltar que o solvente utilizado na extração das diferentes classes de agrotóxicos foi escolhido por apresentar polaridade semelhante à do metanol, solvente utilizado no método tradicional. Este é considerado altamente tóxico, por isso viu-se a necessidade de estudar um solvente com propriedades químicas parecidas, porém atóxico.

A biomassa residual foi armazenada também em frasco âmbar em freezer para ser analisada em UPLC-MS/MS. O tempo de extração foi de 7 horas e a extração foi realizada em triplicata.

#### 4.2.6 Extração com fluido supercrítico

Para a realização dos experimentos usando fluido supercrítico recorreu-se a um planejamento experimental, visando otimizar o número de experimentos em virtude das análises a serem realizadas.

##### 4.2.7.1 Planejamento experimental

O planejamento experimental estudado nesta dissertação foi o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), selecionado em detrimento aos demais disponíveis na literatura pela redução do número de tratamentos em relação aos fatoriais completos (ATKINSON & DONEV, 1992) e por ter possibilidade de ser realizado sequencialmente, otimizando o sistema em análise (LUCAS, 1976; DONEV & ATKINSON, 1988). Esta última característica é uma das mais interessantes do delineamento pois, segundo Montgomery e Myers (1995) e Khury e Cornel (1987), a maioria das aplicações da metodologia de superfície de resposta é de natureza sequencial.

Basicamente, este planejamento é composto de um delineamento simétrico e de segunda ordem, dos quais compreendem as partes: fatorial  $2k$  – com um ou mais pontos centrais, executado(s) em triplicata, gerando então uma estimativa interna de erro puro – e as axiais, que determinam os termos quadráticos (MATEUS; BARGIN & CONAGIN, 2001). Sendo assim, foram avaliadas neste trabalho duas variáveis independentes (temperatura e pressão), das quais estão mostrados os seus respectivos níveis na Tabela 3, incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central totalizando 11 ensaios.

As pressões e temperaturas foram definidas como variáveis independentes pois, dentre os numerosos fatores que interferem na extração com fluido supercrítico (temperatura e pressão no interior do extrator, tempo estático, tempo dinâmico e fluxo do solvente), essas são as mais importantes tratadas nesse estudo.

Segundo Wuchner & Grob (1995), para uma determinada temperatura, a densidade do fluido aumenta significativamente com a pressão, de modo que um pequeno aumento da pressão é benéfico para a solubilidade de analitos no fluido. Uma classe de compostos pode ser caracterizada pelo seu "Iniciar de pressão" (isto é, a pressão acima da qual eles começam a ser solúveis no fluido). Conseqüentemente, a escolha correta da pressão pode levar a extrações seletivas; assim, o fluido na pressão ideal deve permitir a sucessiva extração de classes de pesticidas e/ou a extração dos pesticidas sem a interferência da extração simultânea da matriz (WUCHNER & GROB, 1995).

**Tabela 3** - Matriz do Planejamento Fatorial Composto Rotacional aplicada à extração de agrotóxicos presentes na *Musa spp.*

Ensaio	Níveis das Variáveis Independentes Codificados		Níveis Reais das Variáveis Independentes	
	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Pressão (bar)
1	-1	-1	46	244
2	1	-1	74	244
3	-1	1	46	456
4	1	1	74	456
5	-1,4142	0	40	350
6	1,4142	0	80	350
7	0	-1,4142	60	200
8	0	1,4142	60	500
9	0	0	60	350
10	0	0	60	350
11	0	0	60	350

Diversos autores obtiveram resultados satisfatórios quando utilizaram pressões acima de a 200 bar e verificaram um favorecimento das extrações com o aumento da pressão (SNYDER *et al.*, 1993; CHAU *et al.*, 1995; KHAN *et al.*, 1995). Portanto, preferencialmente, selecionou-se uma ampla faixa de pressão da qual a menor estudada foi de 200 bar e a de maior pressão foi de 500 bar, a fim de avaliar o quanto o poder de solvatação do CO<sub>2</sub> é significativo para a extração dos agrotóxicos.

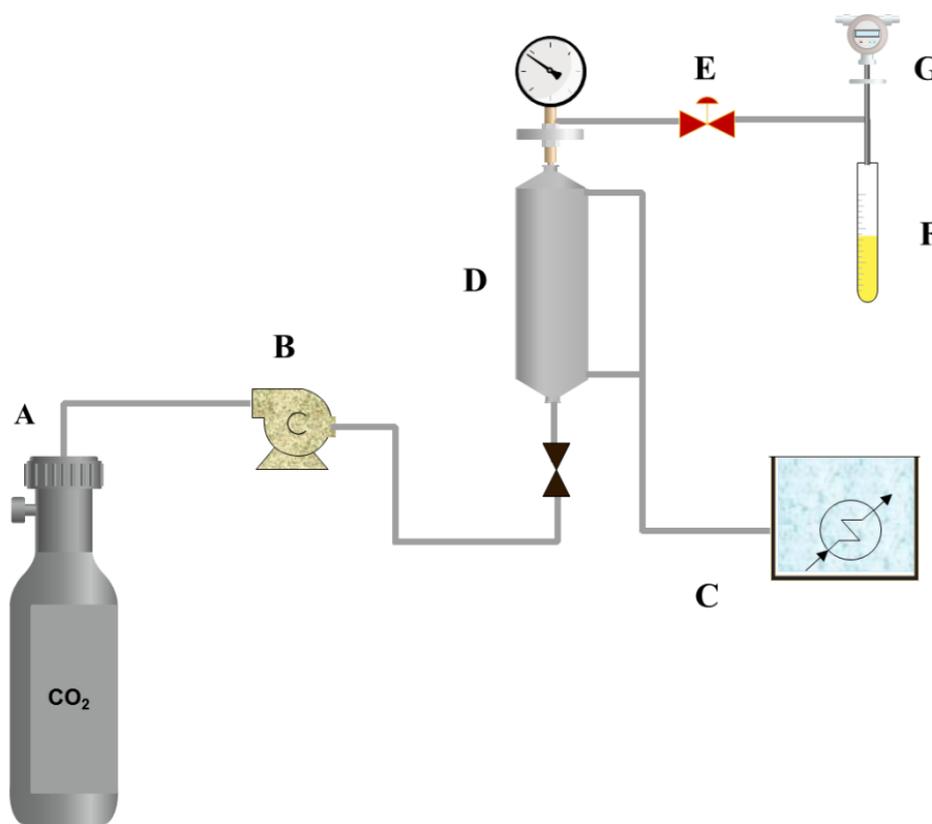
Com relação à temperatura, apesar de um efeito negativo sobre a densidade do fluido, geralmente temperaturas elevadas aumentam as pressões de vapor dos analitos e, por isso, aumenta-se o poder de extração em alguns casos (BOWADT & HAWTHORNE, 1995; HAWTHORNE & MILLER, 1994). No entanto, alguns pesticidas se degradam com facilidade em altas temperaturas; conseqüentemente, temperaturas moderadas devem ser usadas sempre que possível. Embasado nisso, foi escolhida também uma ampla faixa de temperatura que variou de 40 °C até 80 °C, de forma a manter temperaturas moderadas que não degradassem os agrotóxicos termolábeis investigados.

#### 4.2.7.2 Procedimento experimental para extração com CO<sub>2</sub>-SC

A extração dos agrotóxicos foi realizada em um aparato experimental, montado no LTAB da UFRRJ e, conforme mostrado na Figura 11, contém um extrator de 42 mL de aço inoxidável 316S, com telas de 260 mesh no topo e no fundo para evitar a passagem de qualquer material, uma bomba de alta pressão (Palm modelo G100), específica para bombeamento de CO<sub>2</sub> que é responsável pela alimentação do solvente a uma vazão de, aproximadamente, 6,04 mL/min, uma válvula micrométrica, que controla o fluxo e tem a função de realizar a amostragem, um banho termostático (modelo Fisatom), para controlar a temperatura do processo, um manômetro, para medir a pressão durante todo o experimento e auxiliar na segurança do equipamento, e um rotâmetro previamente calibrado, usado para medir a vazão do gás.

O extrator é primeiramente alimentado com cerca de 8 g de farinha da banana verde com casca (45% casca e 55% polpa), após as 18 horas da fortificação com a solução intermediária de agrotóxicos. Tal proporção foi utilizada uma vez que representa a quantidade desses componentes em uma fruta inteira, estando em consonância com a Resolução n° 4 da Anvisa, de 18 de janeiro de 2012, para a realização de estudos de resíduos de agrotóxicos.

Posteriormente, pérolas de vidro são adicionadas para evitar que a amostra fique empacotada em alguns pontos, fazendo com que o CO<sub>2</sub>-SC entre em contato com toda a amostra, evitando caminhos preferenciais. Logo após o extrator ser alimentado, o procedimento inicializa ligando-se o banho de aquecimento para que o mesmo atinja a temperatura desejada e requerida, de acordo com as condições operacionais estabelecidas no processo de extração.



**Figura 11** - Esquema da unidade supercrítica montada no LTAB, sendo A: cilindro de CO<sub>2</sub>; B: bomba de alta pressão; C: banho térmico; D: extrator; E: válvula micrométrica; F: amostra; G: medidor de vazão.

Depois que a temperatura desejada é alcançada, o CO<sub>2</sub> é alimentado ao extrator pela ação da bomba de alta pressão, onde o solvente atinge o estado subcrítico, isto é, alcançando, até então, a temperatura crítica. Através dessa bomba, o solvente será pressurizado até atingir a pressão desejada e, neste ponto, o CO<sub>2</sub> atinge o estado supercrítico.

Neste momento, após todos os *set-points* serem atingidos, monitora-se o tempo estático de 20 minutos para que o CO<sub>2</sub>-SC interaja o suficiente com a matriz e os agrotóxicos presentes nela e, após esse período, inicia-se o processo de extração e o refinado é obtido através do processo de expansão, assegurado pela abertura da válvula micrométrica. A extração é realizada em modo dinâmico, com intervalos de 10 minutos, do qual foram promovidas coletas em tubo polipropileno, previamente pesado. Após cada coleta, o tubo foi mantido imerso em um banho com gelo para que não houvesse degradação do extrato. Os ensaios foram realizados seguindo o planejamento de experimentos com o tempo máximo de extração de 380 minutos, onde foi observada a saturação da curva de extração.

A partir destes experimentos foram analisados o extrato e a biomassa residual remanescente no extrator após a extração.

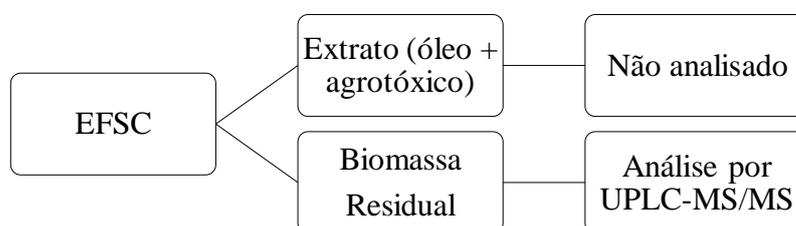
#### 4.2.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As biomassas residuais da *Musa spp.* provenientes de todas as extrações realizadas pela técnica com CO<sub>2</sub>-SC e a biomassa *in natura* desta farinha (casca e polpa) foram submetidas às análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV), que foi utilizada para caracterizar a morfologia da superfície das cascas e polpas da banana, obtendo imagens que permitam a visualização da forma, da distribuição e das dimensões dos grãos, fibras e lâminas.

As análises foram realizadas no equipamento TM 3000 da Hitach, equipado com um filamento capilar de tungstênio, presente no Instituto de Florestas da UFRRJ.

#### 4.2.8 Métodos analíticos

O processo analítico foi dividido em duas partes referentes ao extraído e à biomassa residual do processo de EFSC, conforme exposto na Figura 12, para melhor entendimento do procedimento adotado.



**Figura 12** - Processo de análise adotado para o extrato e a biomassa residual após EFSC.

Na Figura 12 nota-se que o extrato, composto por óleo e agrotóxicos, não foi analisado neste trabalho, visto que os equipamentos disponibilizados pelo INCQS (Fiocruz-RJ) não são apropriados para identificar e quantificar este tipo de amostra, já que o método não foi validado ainda pelo instituto de pesquisa para este material. Além disso, todas as análises foram realizadas em duplicata visto que são análises dispendiosas, não podendo ser feitas em triplicata.

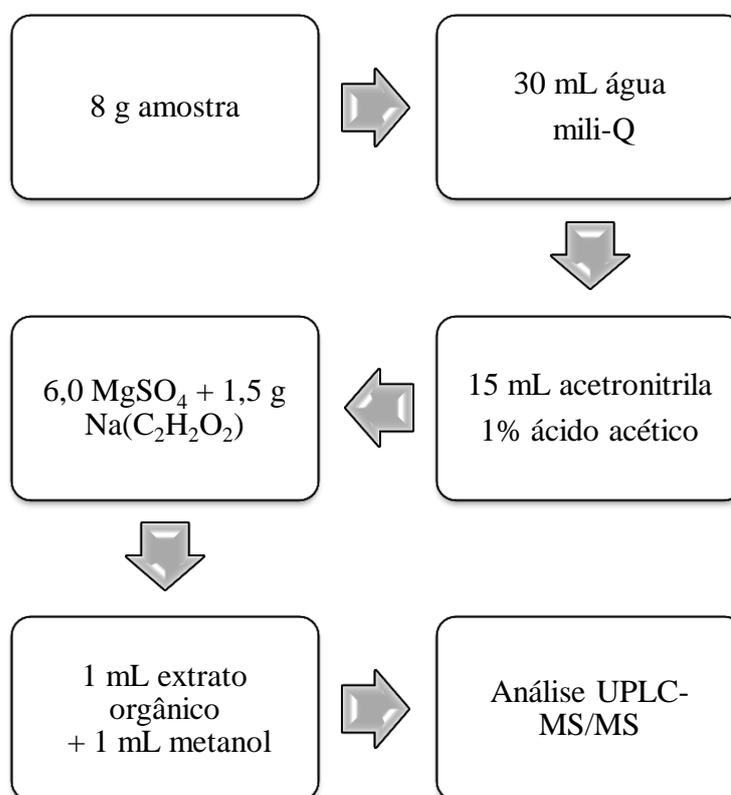
Para realizar as análises da biomassa residual após EFSC, foi necessário submeter à amostra a um processo de extração pelo método QuEChERS, o qual introduziu uma nova denominação ao procedimento de limpeza da amostra, denominada extração em fase sólida dispersiva (SPE-D) (ANASTASSIADES *et al.*, 2003).

#### 4.2.9.1 Análise da biomassa residual

##### 4.2.9.1.1 Extração em fase sólida dispersiva (SPE-D)

Para desenvolver este método foram utilizados reagentes e solventes, tais como acetato de etila, acetonitrila, metanol - solventes orgânicos de alta pureza e grau cromatográfico, ácido acético glacial (Merck e Tedia), formato de amônio (FLUKA), Extran<sup>®</sup> alcalino (Merck), MgSO<sub>4</sub> PA (Merck); e Na(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) anidro (Spectrum), seco a 220 °C por 3 horas antes do uso. Os materiais utilizados foram: seringas de vidro; tubos para centrifuga de fundo cônico (tipo Falcon) de 50 mL; frascos de vidro âmbar com tampa vazada e teflon (Supelco); macrocontrolador de pipetas (Brand), unidade filtrante GV Millex 0,22 µm (Millipore) e *vials* de vidro (Waters).

As amostras foram pesadas (cerca de 8 g) em tubo para centrifuga de fundo cônico (tipo Falcon) de 50 mL. Em seguida, foi iniciada a extração com a adição de 30 mL de água mili-Q e, após homogeneização por cerca de 30 segundos em vortex, foram adicionados 15 mL de acetonitrila (1% ácido acético) e submeteu-se à agitação em vortex. Para a SPE-D foram adicionadas 6,0 g de MgSO<sub>4</sub> e 1,5 g Na(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) homogeneizados em vortex e posteriormente centrifugados durante 10 minutos a temperatura ambiente. O extrato orgânico foi diluído com metanol e filtrado em unidades filtrantes de 0,22 µm. O processo de extração descrito está representado pelo fluxograma da Figura 13.



**Figura 13** - Detalhamento do método QuEChERS usado neste trabalho.

#### 4.2.9.2 UPLC-MS/MS

Para a análise no UPLC-MS/MS, o gradiente de eluição utilizado foi: fase móvel A (5 mmol/L formato de amônio em água (10% metanol) inicialmente com 82,5% (v/v) com rampa linear até atingir 5,5% da mesma fase em curva linear. O tempo total de análise foi de 25 minutos. O equipamento foi operado em monitoramento de reações múltiplas (MRM) com ionização por *eletrospray* no modo íon positivo. A Tabela 4 mostra as condições utilizadas para a análise de resíduos de agrotóxicos em (ES<sup>+</sup>) nas amostras avaliadas.

Após esse procedimento analítico, os resultados foram avaliados para praticamente todos os agrotóxicos permitidos à cultura da banana, compreendendo cerca de 40 agrotóxicos. Vale ainda acrescentar que toda a técnica utilizada é proveniente do Laboratório de Agrotóxicos do INCQS (FIOCRUZ-RJ).

**Tabela 4** - Condições do UPLC-MS/MS utilizadas para a análise de resíduos de agrotóxicos em (ES+).

UPLC	
Coluna analítica	BEH C <sub>18</sub> , 1,7 µm, 100 x 2,1 mm
Temperatura da coluna	35 °C
Fluxo da fase móvel	0,3 mL/min
Volume de injeção	5 µL
Fase móvel A	5 mmol /L formato de amônio em água(10% metanol)
Fase móvel B	Metanol
MS/MS	
Fonte	ES +
Voltagem capilar	0,98 kV
Temperatura da fonte	100 °C
Interface	eletctrospray (Z-Spray) <sup>TM</sup>
Fluxo do gás do cone	50 L/h de nitrogênio
Temperatura de dessolvatação	400 °C
Gás de dessolvatação	Nitrogênio ultra puro
Gás de colisão e pressão	Argônio (3,5 x10 <sup>-3</sup> ) mbar

#### 4.2.9 Modelagem matemática

A modelagem das curvas de extração obtidas com a EFSC tem como objetivo avaliar a influência dos parâmetros, visando representar o processo de extração para o uso em um *scale-up* do processo. Comumente, nos trabalhos do grupo de pesquisa, aplicam-se modelos empíricos simples, visando estudar o comportamento e modelos que envolvem a transferência de massa, mais complexos e completos. Dentre eles, utilizou-se o modelo empírico de Esquivel *et al.* (1999), o modelo de Reverchon & Osseo (1994), Zeković (2003) e o modelo de Sovová (1994), desenvolvido através de uma rotina implementada no Software Matlab 2009b. Além dos modelos para o estudo e representação da cinética de extração, estudou-se também o modelo de Chrastil (1982), para determinar a solubilidade dos agrotóxicos em CO<sub>2</sub>-SC e compará-las aos dados experimentais.

Na Tabela 5 encontram-se as equações dos modelos utilizados e seus respectivos parâmetros.

**Tabela 5** - Apresentação dos modelos matemáticos utilizados para o estudo da cinética de extração

Modelo	Parâmetros de ajuste	Equação
Esquivel <i>et al.</i> (1999)	$e_{lim}$ e $b$	$e = e_{lim} \left( \frac{t}{b + t} \right)$
Reverchon & Osseo (1994)	$t_i$	$Y = 100 \left[ 1 - \exp \left( - \frac{t}{t_i} \right) \right]$
Zeković (2003)	$a$ e $b$	$Y = 100 [1 - \exp (at + b)]$
Sovová (1994)	$x_k, k_{fao}$ e $k_{sao}$	$e = \begin{cases} qy_r [1 - \exp(-z)], & \text{se } q < q_m \\ y_r [q - q_m \exp(z_m - z)], & \text{se } q_m \leq q < q_n \\ x_0 - \frac{y_r}{w} \ln \left\{ 1 + \left[ \exp \left( w \frac{x_0}{y_0} \right) - 1 \right] \exp [w(q_m - q)] \frac{x_k}{x_0} \right\}, & \\ \text{se } q \geq q_n \end{cases}$ <p>sendo:</p> $q_0 = \frac{(x_0 - x_k)}{y_r z}$ $q_n = q_m + w^{-1} \ln \frac{x_k + (x_0 - x_k) \exp \left( w \frac{x_0}{y_r} \right)}{x_0}$ $\frac{z_w}{z} = \frac{y_r}{w x_0} \ln \frac{x_0 \exp [w(q - q_m)] - x_k}{x_0 - x_k}$

No modelo de Esquivel, a equação descreve o rendimento da extração ( $e$ ) (calculado pela razão entre a massa de óleo recuperada em função do tempo e a massa inicial de carga livre de soluto) em função do tempo ( $t$ ) e possui apenas dois parâmetros de ajuste  $e_{lim}$  (representa o valor de “ $e$ ” para um tempo infinito de extração) e  $b$  (parâmetro ajustável dependente da vazão mássica, temperatura e pressão).

Na equação do modelo de Reverchon & Osseo (1994), o rendimento normalizado da extração ( $Y\%$ ) é obtido pela relação entre o rendimento de extração pelo rendimento máximo de extração, multiplicado por 100;  $t_i$  o tempo de difusão interna (s), sendo o parâmetro de estimação do modelo; e  $t$  o tempo de extração (s).

A equação do modelo de Zeković (2003) apresenta dois parâmetros, sendo  $a$ , uma constante e  $b$  o termo de correção,  $Y$  é o rendimento normalizado de extração (%) e  $t$  o tempo de extração (s).

Já nas equações do modelo proposto por Sovová (1994),  $x_0$  representa a quantidade máxima possível de sólido extraído,  $q$  a quantidade específica de solvente,  $y_r$  a solubilidade,  $Z$  o parâmetro do período de extração rápida e  $W$  o parâmetro do período de extração lenta.

O modelo de solubilidade de Chrastil (1982) apresenta três parâmetros ( $k$ ,  $a$  e  $b$ ) e a equação é descrita como:

$$S = \rho^k \exp\left(\frac{a}{T} + b\right)$$

sendo  $S$  solubilidade do sólido (mg do soluto/L de solução),  $\rho$  densidade do fluido (mg/L),  $T$  temperatura (K).

Todos os modelos foram analisados de acordo com o desvio relativo médio (DRM %), calculado através da Equação 16, sendo  $N_{\text{exp}}$  o número de pontos experimentais utilizados.

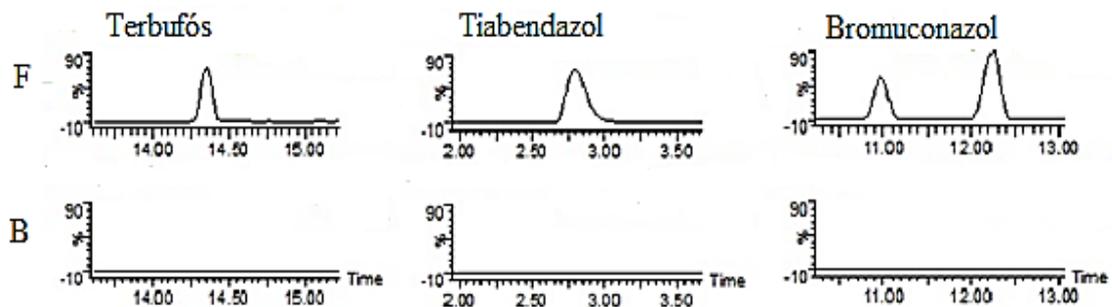
$$\text{DRM \%} = \frac{100}{N_{\text{exp}}} \sum \left| \left( \frac{(\text{e experimental}) - (\text{e calculado})}{\text{e experimental}} \right) \right| \quad (16)$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos nos ensaios de extração supercrítica da farinha de banana verde fortificada com agrotóxicos (rendimentos das extrações e as curvas cinéticas), bem como as modelagens das mesmas para cada modelo matemático proposto. Também são apresentados os rendimentos dos agrotóxicos obtidos por análise cromatográfica para cada condição operacional, assim como os rendimentos por análise gravimétrica baseados na carga livre de soluto referente ao extrato (óleo e agrotóxico).

### 5.1 Análise da Amostra *In Natura* e Após Fortificação

Para a realização da análise da amostra *in natura*, foi preciso primeiramente, se certificar que a mesma estava isenta dos agrotóxicos em estudo e interferentes de coeluição que impedissem a identificação e quantificação dos mesmos. Para essa constatação, foram escolhidos três agrotóxicos para análise da presença dos mesmos nas amostras *in natura*. Portanto, na Figura 14 são apresentados os resultados da cromatografia para três agrotóxicos selecionados para exemplificar os cromatogramas do branco da biomassa residual da amostra oriunda da EFSC (B) e da biomassa residual da mesma amostra após a fortificação, analisadas por UPLC-MS/MS (F), de acordo com as condições cromatográficas previamente estabelecidas.



**Figura 14** - Análises cromatográficas dos agrotóxicos Terbufós, Tiabendazol e Bromuconazol, sendo F. amostras fortificadas da biomassa residual orgânica, após EFSC e B. biomassa residual do branco após EFSC.

Apesar de terem sido apresentados apenas os resultados referentes a três agrotóxicos, todos os 27 compostos estudados foram submetidos a esta análise. Como, através da ilustração da Figura 14, ficou comprovado que não existia a presença de nenhum agrotóxico, ou seja, a banana poderia ser considerada orgânica, prosseguiu-se com os experimentos através da fortificação da matriz para ser aplicada ao planejamento experimental, conforme relatado no Capítulo 4. Outra informação importante que foi vista é a comprovação de que, após o preparo da amostra para as análises cromatográficas, não foram constatadas perdas durante o procedimento experimental utilizado.

#### 5.1.1 Diâmetro médio das partículas

A fim de obter maior confiabilidade nos resultados inerentes ao tamanho das partículas, a amostra foi previamente selecionada a partir dos materiais retidos nas aberturas

de peneiras de 32 a 80 mesh. A partir da Equação 10, obteve-se o diâmetro médio de Sauter como sendo de 266,300  $\mu\text{m}$ .

Uma vez constatada a aproximação dos resultados para ambos os métodos empregados na caracterização das partículas, preferiu-se utilizar o obtido pelo Malvern, que apontou o diâmetro médio de Sauter de 269,044  $\mu\text{m}$ , para a composição da farinha de 45% de casca e 55% da polpa, já que este método possui maior precisão.

## 5.2 Composição Química da Biomassa Antes e Após a Extração com Fluido Supercrítico

A análise da composição centesimal da biomassa estudada é primordial para constatar se após a EFSC ocorrem perdas dos compostos químicos intrínsecos a mesma, já que há a possibilidade de direcionar o uso dessa biomassa residual para outros fins, após a extração dos agrotóxicos que estavam presentes na farinha.

Diante disso, a avaliação da composição química da banana *Musa spp.* foi feita com a amostra *in natura*, para comparar com algumas das amostras selecionadas após a extração supercrítica e os resultados são mostrados na Tabela 6.

As condições operacionais para análise da composição química foram selecionadas a partir das condições de temperatura (T) e pressão (P) mais amenas e mais elevadas. Assim, é possível verificar se após determinada condição de T e P, houve perda de algum componente frente à amostra *in natura*.

**Tabela 6** - Resultados da composição química, em percentagem, das amostras *in natura* e após a extração supercrítica.

Amostras	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos
<i>In natura</i>	9,4 ± 0,1	3,2 ± 0,0	5,8 ± 0,0	4,8 ± 0,8	77,3
<b>244 bar - 46 °C</b>	14,1 ± 0,2	3,5 ± 0,5	5,5 ± 0,0	4,5 ± 0,7	72,4
<b>350 bar - 60 °C</b>	12,4 ± 0,5	3,4 ± 0,1	5,1 ± 0,0	4,3 ± 0,5	74,3
<b>456 bar - 46 °C</b>	13,3 ± 0,8	3,4 ± 0,4	5,0 ± 0,0	4,2 ± 1,5	73,8

O teor de lipídios apresentado na Tabela 6 foi obtido subtraindo-se o conteúdo total de óleo presente na biomassa extraída pelo método convencional, menos o conteúdo lipídico extraído no CO<sub>2</sub> supercrítico. Este foi calculado através de um balanço de massa referente ao extrato (óleo + agrotóxico) e a quantidade de agrotóxicos extraídos, gerando a quantidade de lipídios remanescentes na biomassa residual.

Os resultados mostram que, após a extração, a biomassa permanece com sua composição praticamente inalterada, apresentando-se como um potencial em nutracêuticos, alimentos destinados a animais ou à biofertilizantes.

É importante ressaltar ainda que não existem informações da composição química na literatura a respeito dessa espécie de banana, conhecida comercialmente pelo nome Banana Vitória. Isso mostra que tais resultados poderão contribuir para o meio científico e trabalhos futuros.

## 5.3 Densidade Aparente do Leito e Porosidade do Leito

Na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos das análises da densidade aparente do leito, assim como da porosidade do leito. Todas foram realizadas em triplicata e os resultados expressos com base no desvio padrão relativos (DPR).

**Tabela 7** - Densidade aparente do leite e porosidade do leite.

Porosidade do leite	Densidade aparente do leite (g/mL)
0,0476 ± 0,0	0,2064 ± 0,3

#### 5.4 Extração Convencional

Para comparar o resultado da extração com CO<sub>2</sub>-SC, foi necessário também aplicar um método convencional. Sendo assim, a extração por Soxhlet foi escolhida e realizada com esse intuito e a amostra, assim como nas demais análises, passou por um processo de fortificação para, após 18 horas, ser submetida à extração, conforme apresentado no item 4.2.1.

As extrações foram realizadas em triplicata e o rendimento referente ao extrato (óleo e agrotóxico) foi calculado pela Equação 17, em que massa extraída é a massa de óleo e de agrotóxico que foi extraída e a massa da farinha fortificada é a massa da farinha contaminada pelos agrotóxicos.

$$S \% = \frac{\text{massa extraída}}{\text{massa da farinha fortificada}} \quad (17)$$

O rendimento do extrato (S%) foi de 5,75% ± 0,12 e para o rendimento em massa, obtido através da análise no UPLC-MS/MS, foi de 99,11%. Os resultados apresentados são a média dos resultados em triplicata, para o caso do Soxhlet.

#### 5.5 Extração com CO<sub>2</sub>-SC

A viabilidade técnica da extração de agrotóxicos presentes na banana Vitória *musa spp.* com dióxido de carbono no estado supercrítico, em diferentes condições de pressão e temperatura, foi investigada. O rendimento experimental (e%) foi calculado de acordo com a Equação 18.

$$e \% = \frac{\text{massa extraída}}{\text{massa de carga livre de soluto}} \quad (18)$$

sendo massa extraída a massa de óleo e de agrotóxico extraída e massa de carga livre de soluto, a massa da farinha sem a presença desse extrato, que foi previamente calculado pelo método convencional Soxhlet.

Já para o rendimento dos agrotóxicos (R%), utilizou-se a Equação 19, que relaciona a massa de agrotóxicos extraída pela massa de agrotóxicos inicialmente alimentados na matriz, através da fortificação.

$$R \% = \frac{\text{massa de agrotóxico extraída}}{\text{massa de agrotóxico inicial}} \quad (19)$$

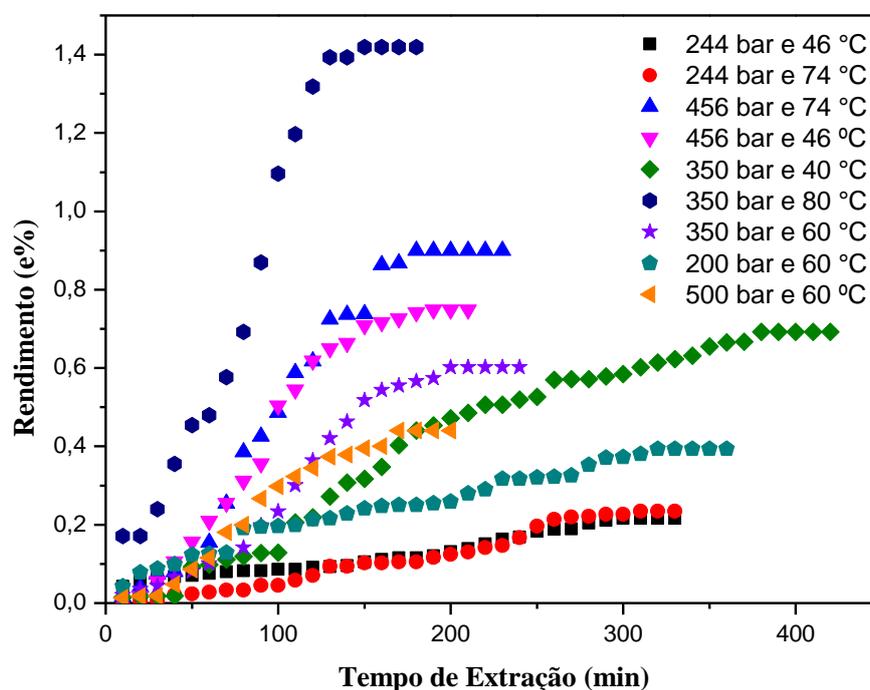
Na Tabela 8 são apresentados os valores da densidade do CO<sub>2</sub> (ANGUS *et al.*, 1976) e as diferentes condições de temperatura e pressão utilizadas, assim como os seus respectivos rendimentos de extração, calculados de acordo com a Equação 18, seguindo o planejamento experimental.

**Tabela 8** - Rendimentos obtidos das extrações realizadas nas diferentes condições operacionais.

Experimento	Temperatura (° C)	Pressão (bar)	Densidade CO <sub>2</sub> (kg.m <sup>-3</sup> )	e (%)
1	46	244	847,3430	0,2161
2	74	244	705,2799	0,2346
3	46	456	1006,400	0,7500
4	74	456	933,8299	0,8995
5	40	350	935,0887	0,6921
6	80	350	789,1772	1,4194
7	60	200	722,8330	0,3937
8	60	500	983,0095	0,4400
9*	60	350	863,2806	0,6380

\* Realizado em duplicata, DPR = 2,8%.

A Figura 15 mostra as curvas cinéticas de extração da farinha de banana verde fortificada em função do tempo de extração, para todas as condições operacionais empregadas.

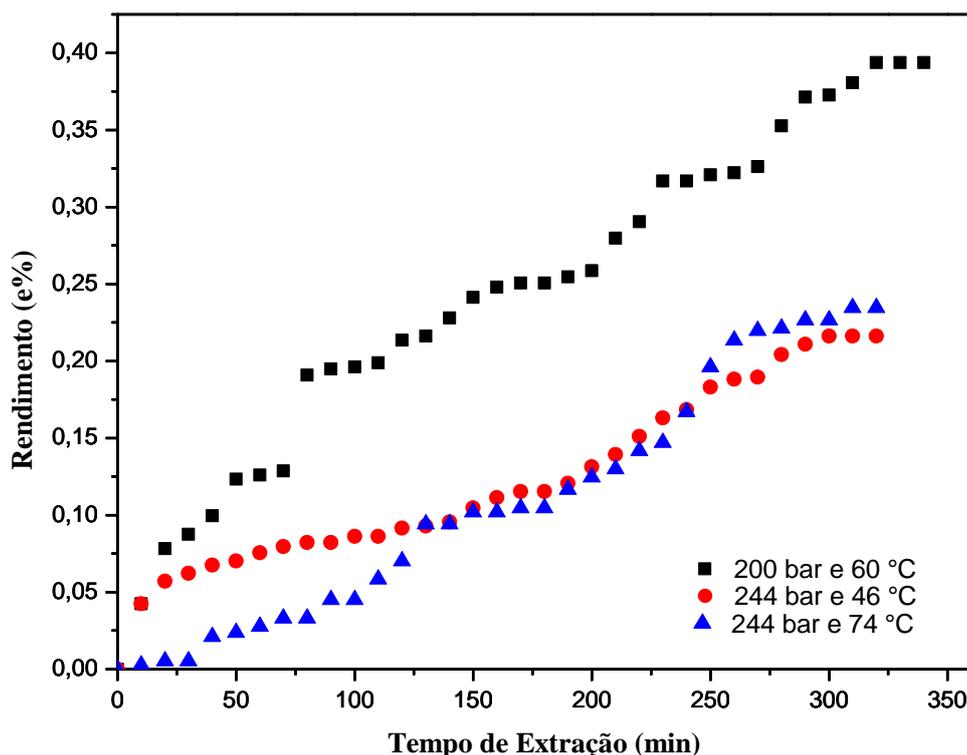


**Figura 15** - Curvas de extração para todas as condições experimentais presentes no planejamento experimental.

Em geral, os melhores rendimentos aconteceram nas pressões mais altas, sendo o melhor rendimento em óleo contendo agrotóxico (e%) obtido na condição de 80 °C e 350 bar,

com um valor de 1,42%. Porém, o comportamento da extração variou de acordo com algumas condições experimentais específicas, conforme visto na Figura 15.

Nas Figuras 16, 17 e 18 são apresentadas as curvas de extração para as diferentes pressões e temperaturas investigadas, mostradas isoladamente para melhor visualização dos fenômenos ocorridos nas cinéticas de extração. As curvas relacionam rendimento (e%) em função do tempo (minutos) da extração e o tempo final de extração variou conforme as diferentes condições de pressão e temperatura. Conforme dito anteriormente, a extração máxima durou 380 minutos na condição de 350 bar – 40 °C.

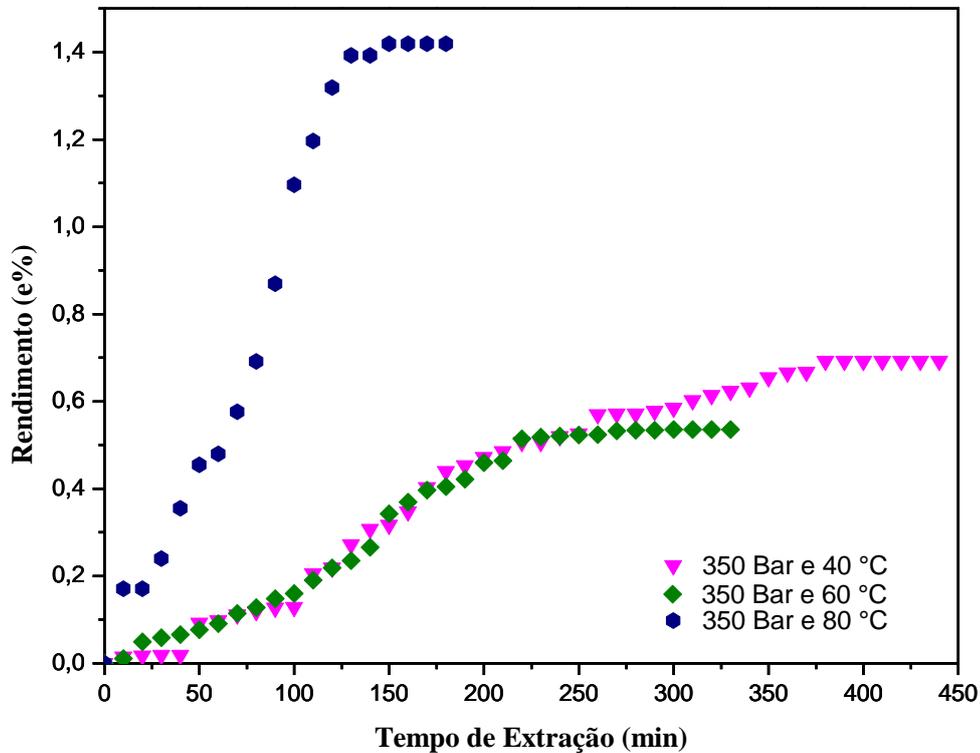


**Figura 16** - Curvas das extrações para as condições de 244 bar-74 °C, 244 bar-46 °C e 200 bar-60 °C.

Comparando os experimentos realizados em 244 bar a 46 °C e 74 °C e 456 bar a 46 °C e 74 °C, verifica-se que ao manter a temperatura constante e aumentar a pressão de 244 bar para 456 bar, o rendimento aumentou de 0,22% para 0,75% em 46 °C e de 0,23% para 0,90% a 74 °C. Isso mostra que o aumento da pressão refletiu em um intenso aumento no rendimento. O mesmo comportamento é notado ao interpretar esses dados isobaricamente, porém o aumento da temperatura não influenciou tanto no aumento do rendimento quanto a pressão.

Para os resultados obtidos à temperatura constante de 60 °C observa-se um aumento no rendimento quando a pressão aumentou de 200 bar para 350 bar (de 0,39% para 0,64%), evidenciando que o aumento da densidade do dióxido de carbono supercrítico promove uma maior solubilização dos compostos, aumentando assim o rendimento da extração. Este comportamento foi similar ao ocorrido nas condições de temperatura e pressão supracitadas. Entretanto, ao aumentar a pressão de 350 bar para 500 bar, houve um decréscimo no rendimento do extrato, de 0,64% para 0,44%. Esse comportamento é inusitado, uma vez que com o aumento da densidade, tem-se um conseqüente aumento do poder de solvatação do

CO<sub>2</sub>-SC e, por conseguinte, uma tendência a aumentar o rendimento (BRUNNER, 1994). Por outro lado, devido ao fato da biomassa estar contaminada por diversos agrotóxicos, o que pode ter ocorrido é que a extração destes pode ter sido favorecida em detrimento dos demais compostos presentes na banana.

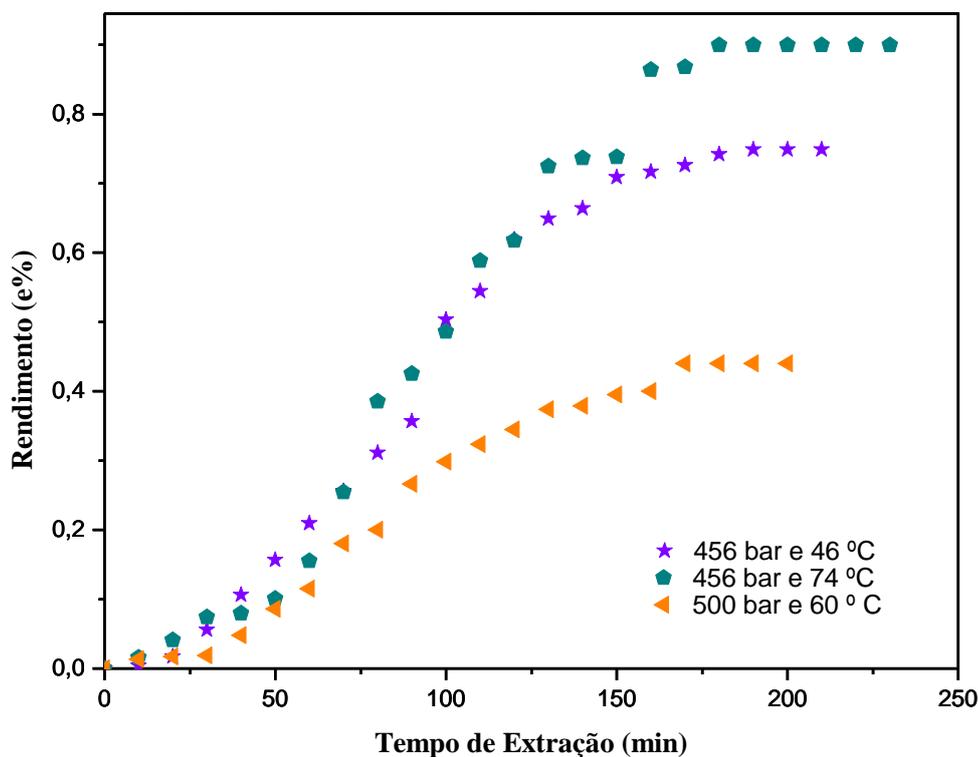


**Figura 17** - Curvas das extrações para as condições de 350 bar-40 °C, 350 bar-60 °C e 350 bar-80 °C.

Já para os experimentos submetidos à pressão de 350 bar, dos quais foram variadas as temperaturas (40, 60 e 80 °C), notou-se que com o aumento da temperatura de 40 °C para 60 °C, houve uma diminuição dos compostos extraídos. Isso é reflexo da diminuição da densidade, implicando em uma diminuição da solubilidade dos compostos no CO<sub>2</sub>-SC.

Entretanto, ao se elevar a temperatura para 80 °C é notório um aumento abrupto no rendimento do processo. Apesar da diminuição da densidade do solvente supercrítico, o aumento do rendimento com a temperatura pode ser explicado devido ao aumento da pressão de vapor do soluto, que supera o efeito da diminuição da massa específica do solvente, promovendo uma maior solubilização do soluto no solvente supercrítico.

A 446 bar observa-se um *crossover* entre as curvas de 46 °C e 74 °C (Figura 18) mostrando os efeitos de competição entre a densidade e a pressão de vapor do soluto, na eficiência de extração. O mesmo fenômeno ocorreu também na condição de 244 bar, para as mesmas temperaturas.



**Figura 18** - Curvas das extrações para as condições de 456 bar-46 °C, 456 bar-74 °C e 500 bar-60 °C.

Diante desses resultados referentes ao extrato bruto, a influência das duas variáveis independentes, temperatura e pressão, foi estatisticamente investigada considerando um nível de confiança de 95% ( $p\text{-Valor} \leq 0,05$ ), em função do rendimento dos extratos brutos obtidos pela aplicação do DCCR na EFSC. Para tanto, com os dados da Tabela 8, foram calculados os coeficientes de regressão, erro padrão e p-valor, todos resumidos na Tabela 9.

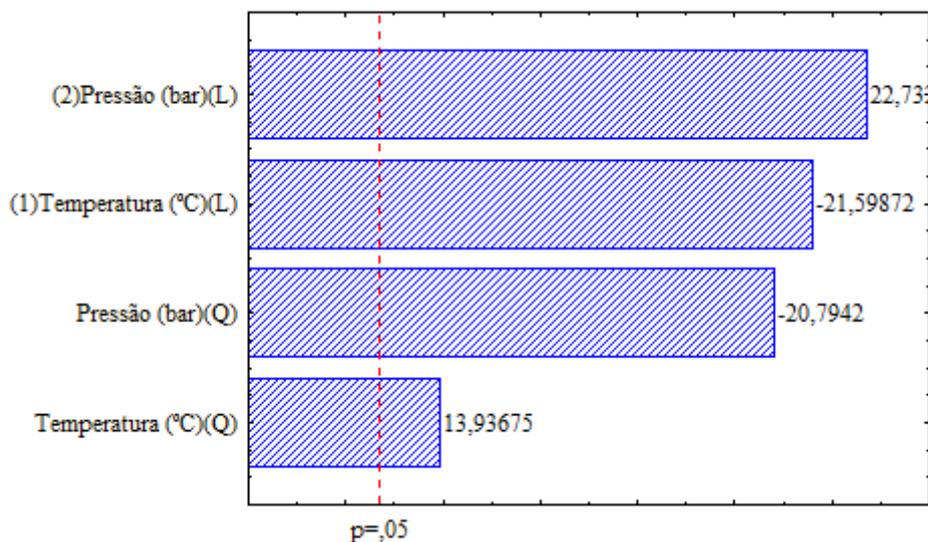
**Tabela 9** - Coeficientes de regressão, erro padrão e p-valor, obtidos para o rendimento bruto dos extratos.

Fatores	Coefficiente de Regressão	Erro padrão	p-valor
Temperatura (L)	-0,066602	0,005566	0,029454
Temperatura (Q)	0,000644	0,000046	0,045601
Pressão (L)	0,013415	0,000577	0,027987
Pressão (Q)	-0,000017	0,000001	0,030592

De acordo com o nível de confiança estabelecido, o p-valor correspondente deve ser menor que 0,05 para indicar que os fatores calculados sejam estatisticamente significativos. Diante disso, percebe-se na Tabela 9, que todas as variáveis investigadas foram estatisticamente significativas, visto que os p-valores citados estão de acordo o critério apresentado acima. Pode-se observar também que as variáveis Pressão (L) ( $p\text{-valor} =$

0,027987) e Temperatura (L) (p-valor = 0,029454) tiveram a menor magnitude no valor de p, indicando que essas variáveis são as mais significativas no processo, respectivamente.

Isso pode ser também comprovado através da análise feita no gráfico de Pareto, mostrado na Figura 19. As alturas das barras fornecem os resultados dos efeitos das variáveis (t-valor) e estão dispostas em ordem decrescente, corroborando com a maior influência da Pressão (L), seguida pela Temperatura (L). Além disso, pode-se notar que todas as variáveis em estudo foram estatisticamente significativas, para o nível de confiança de 95%. Apesar disso, o parâmetro quadrático (Q) da variável pressão e o parâmetro linear (L) da temperatura mostraram um efeito negativo sobre a extração, indicando que o aumento destes fatores não favorece a obtenção do extrato bruto.



**Figura 19** - Gráfico de Pareto para a análise do rendimento de extrato bruto.

Para avaliar a qualidade do ajuste do modelo utilizou-se a Tabela 10, que ilustra os principais efeitos para análise de variância (ANOVA) em um intervalo de 95% de confiança.

**Tabela 10** - Análise de Variância para o rendimento do extrato bruto.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F-calculado	F-tabelado	P-valor
Regressão	0,7976	1	0,7976	18,5748	5,3177	0,002582
Resíduo	0,3435	8	0,0429			
Total	1,1412	9				

\*O coeficiente de determinação do modelo ( $R^2$ ) foi igual a 0,6986.

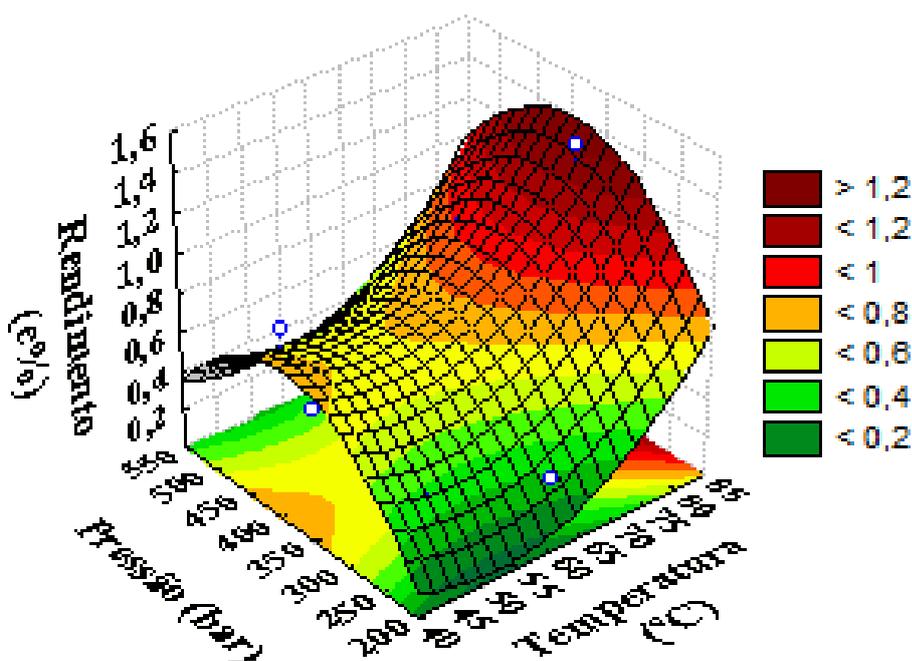
Através do teste F, verifica-se que a análise de regressão também foi significativa, visto que o valor do  $F_{cal}$  (18,5748) foi maior do que o  $F_{tab}$  (5,3177). O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) neste caso foi de 0,6986, o que indica que o modelo é capaz de explicar 69,86% da variação total dos parâmetros experimentais observados. Assim, o modelo é válido e apropriado para representar as relações entre os parâmetros selecionados.

Uma vez validado o modelo ( $F_{cal} > F_{tab}$ ) e levando-se em consideração as variáveis significativas apontadas pela análise de variância, foi possível gerar um modelo de segunda ordem. A Equação 20 representa o modelo codificado que descreve as superfícies de resposta para o rendimento do extrato bruto.

$$y = -0,2351 - 0,0666 \times T + 0,0006 \times T^2 + 0,01342 \times P - 0,00002 \times P^2 \quad (20)$$

sendo  $y$  o rendimento da extração do extrato bruto,  $T$  a temperatura experimental e  $P$  a pressão experimental.

A Figura 20 apresenta a superfície de resposta que ilustra o rendimento da extração em função da temperatura e da pressão.



**Figura 20** - Superfície de resposta relacionando o rendimento da extração em função da temperatura e da pressão.

A superfície de resposta define as condições mais adequadas que maximizam a variável dependente (rendimento de extração). Assim, ao analisar a superfície de resposta gerada pelo modelo de segunda ordem, pode ser observada uma região otimizada a temperaturas mais elevadas e pressões intermediárias. Os dados indicam que, em qualquer temperatura, o rendimento da extração e, conseqüentemente, a concentração do extrato irá aumentar com o aumento da pressão, até cerca de 400 bar. Acima desta pressão, é evidenciado um decréscimo do rendimento. O mesmo efeito é comprovado ao se manter a pressão constante e elevar a temperatura, isto é, há um favorecimento da extração dos analitos nessas condições.

Os resultados da influência da temperatura e da pressão no extrato obtido, composto por óleo e agrotóxicos, não puderam ser comparados com outro trabalho, visto que, até o presente momento, não foram encontrados trabalhos na literatura sobre esse sistema com dióxido de carbono supercrítico.

## 5.6 Análises dos Agrotóxicos Extraídos da Farinha de Banana Verde

As análises dos agrotóxicos, segundo o que a norma preconiza, devem ser realizadas isenta de óleo. Com isso, as análises foram feitas na biomassa residual, não podendo ser realizadas nos extratos, visto que continham óleo juntamente com os agrotóxicos. Portanto, a

biomassa residual oriunda da extração supercrítica foi analisada por UPLC-MS/MS e os resultados (Tabela 11) foram obtidos pela soma total das massas extraídas dos agrotóxicos para cada condição experimental e, a partir disso, obteve-se o rendimento referente a todos os agrotóxicos, calculados através da Equação 19. Para isso, partiu-se do princípio de que não ocorreram perdas dos analitos durante o processo extrativo, assim como no procedimento realizado anteriormente às análises cromatográficas. Essa premissa foi baseada a partir dos resultados obtidos no item 5.1.

**Tabela 11** - Rendimento de extração dos agrotóxicos presentes na farinha de banana verde com dióxido de carbono supercrítico.

Experimento	Temperatura (° C)	Pressão (bar)	Agrotóxicos	
			(mg)	R (%)
1	46	244	0,0144	66,4630
2	74	244	0,0156	72,2037
3	46	456	0,0180	83,4444
4	74	456	0,0185	85,4444
5	40	350	0,0120	55,5185
6	80	350	0,0177	81,8704
7	60	200	0,0159	73,4630
8	60	500	0,0204	94,5370
9*	60	350	0,0193	89,2130

\*Realizado em duplicata, DPR = 2,8%.

Então, foi considerado o princípio de conservação das massas, em que a massa alimentada é igual à massa extraída menos a massa que permaneceu na biomassa residual. Com isso, tem-se que a massa extraída de agrotóxicos equivale à diferença entre a massa alimentada e a massa que permaneceu na biomassa residual. Percebe-se na Tabela 11 que o ponto experimental mais favorável à extração de todos os agrotóxicos foi o de maior pressão e temperatura intermediária (500 bar e 60 °C), atingindo um rendimento em massa de agrotóxico de 94,5%.

Aharonson *et al.* (1994) obtiveram resultados semelhantes para a extração do agrotóxico Benzimidazol em banana, maçã e batata realizando um pré-tratamento com terra diatomácea, nas pressões de 160, 400 e 510 bar e temperaturas de 45, 60 e 75 °C usando CO<sub>2</sub>-SC com metanol como co-solvente. Os resultados apontaram que a condição a 400 bar e 60 °C foi a mais favorável à extração desse agrotóxico, chegando a uma eficiência de extração de até 90%. Já Rissato e colaboradores (2004), ao avaliarem 33 agrotóxicos dos grupos organofosforados, organonitrogenados, organohalogenados e piretróides presentes em mel, realizaram liofilização e variaram a pressão de 200, 400 e 600 bar e a temperatura de 40, 60 e 90 °C em um processo de extração usando CO<sub>2</sub>-SC e acetona como co-solvente. Esses autores perceberam que, ao aumentar a pressão, aumentou-se a extração de todos os compostos. Porém, à medida que a temperatura foi aumentada, os agrotóxicos eram mais facilmente desorvidos e, portanto, a temperatura ótima determinada foi a de 90 °C. A partir dessas condições otimizadas, os autores obtiveram eficiências de 75 a 100%.

Os resultados de eficiência para cada agrotóxico são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** - Resultados das análises dos agrotóxicos extraídos, para cada condição operacional pela EFSC e por Soxhlet.

Agrotóxicos	Rendimento (RA%)									
	Soxhlet	244 bar e 46 °C	244 bar e 74 °C	456 bar e 46 °C	456 bar e 74 °C	350 bar e 40 °C	350 bar e 80 °C	200 bar e 60 °C	500 bar e 60 °C	350 bar e 60 °C
Dimetoato	100,00	68,92	81,90	85,41	94,11	71,02	88,46	76,50	96,08	87,47
Etoprofós	100,00	78,03	91,17	91,95	100,00	79,03	98,79	93,27	98,92	89,40
Clorpirifós	100,00	94,63	98,19	98,56	100,00	94,12	100,00	99,73	100,00	99,40
Terbufós	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Carbofurano	100,00	83,06	93,66	100,00	100,00	81,89	97,53	97,21	100,00	92,97
Imazalil	100,00	76,40	85,11	89,61	97,74	74,38	93,55	85,23	100,00	90,20
Difenoconazol	100,00	79,58	79,81	84,27	97,50	64,59	92,80	87,65	94,45	83,66
Carbaril	100,00	77,34	86,14	94,00	97,52	81,85	88,71	87,52	100,00	96,96
Azoxistrobina	100,00	60,43	65,70	79,70	98,52	32,24	86,97	76,41	95,82	73,55
Propiconazol	100,00	75,93	82,35	68,06	99,41	64,01	93,83	87,55	100,00	83,08
Tiabendazol	81,25	15,31	1,54	41,52	5,34	0,00	25,36	0,00	69,55	14,92
Ametrina	100,00	85,89	92,68	95,66	100,00	84,58	96,64	95,92	100,00	96,31

**Tabela 12** - Resultados das análises dos agrotóxicos extraídos, para cada condição operacional pela EFSC e por Soxhlet.  
(Continuação).

Bromuconazol	100,00	45,20	47,82	86,46	89,40	26,92	75,75	82,93	97,33	69,34
Diuron	100,00	56,40	77,31	85,65	99,16	60,35	85,06	48,92	98,87	71,03
Epoxiconazol	100,00	72,34	76,86	87,49	100,00	50,61	92,63	86,53	98,77	85,43
Fenamifós	100,00	83,54	90,70	92,85	100,00	81,87	97,71	93,60	98,86	92,65
Flutriafol	100,00	60,54	77,48	84,23	97,83	58,94	87,25	85,15	94,86	81,98
Imidacloprido	87,50	0,00	0,00	23,35	0,00	0,00	0,00	0,00	55,55	11,86
Piraclostrobina	100,00	78,19	85,03	89,00	99,77	69,12	97,59	87,28	100,00	90,60
Pirimetanil	100,00	89,28	94,44	97,98	100,00	87,07	96,45	97,84	100,00	95,81
Simazina	100,00	88,75	97,10	95,95	100,00	89,68	99,32	97,08	100,00	96,17
Tebuconazol	100,00	73,60	83,06	94,12	96,99	62,00	91,05	83,64	100,00	88,45
Tetraconazol	100,00	52,10	58,25	96,24	100,00	64,95	96,68	69,77	97,14	91,75
Tiacloprido	100,00	0,00	0,00	31,56	0,00	0,00	0,00	0,00	67,12	12,32
Tiofanato Metílico	37,50	49,77	57,77	77,85	74,01	31,45	68,14	61,88	87,80	79,30
Triadimenol	93,75	76,79	75,74	91,31	93,87	60,28	87,10	84,71	97,95	79,51
Trifloxistrobina	100,00	85,63	87,48	90,54	99,76	61,69	94,68	88,99	100,00	81,75

Os rendimentos dos 27 agrotóxicos extraídos (RA) foram calculados de acordo com a Equação 21, que relaciona a concentração extraída de um agrotóxico específico pela concentração do agrotóxico inicialmente adicionado (0,01mg/kg) à biomassa.

$$RA \% = \frac{\text{concentração extraída do agrotóxico}}{\text{concentração do agrotóxico inicial}} \quad (21)$$

Pode-se observar (Tabela 12) que a técnica usando CO<sub>2</sub>-SC foi promissora para a maioria dos agrotóxicos investigados, assim como a extração convencional por Soxhlet. Para facilitar a discussão destes resultados, foram selecionadas três substâncias que apresentaram diferentes rendimentos (RA%), para as distintas condições operacionais, tais como: terbufós (RA de 100% para todas as condições operacionais), bromuconazol (RA de 26,92% a 97,33%) e tiabendazol (RA que variou de 0 a 69,55%).

A discrepância verificada entre os rendimentos destes compostos pode ser explicada através das propriedades químicas dos mesmos e das interações intermoleculares entre o soluto e o CO<sub>2</sub>-SC. O terbufós foi o composto de maior rendimento (100%) em todas as condições experimentais e para as duas técnicas de extração estudadas. Esta substância apresenta baixíssima polaridade (Sw=4,5 mg/L) e um coeficiente de partição extremamente elevado (Kwo=4,24x10<sup>4</sup>), apresentando maiores afinidades com o solvente. Já o tiabendazol apresentou um dos piores resultados dentre todos os agrotóxicos. O coeficiente de partição para este composto é extremamente baixo quando comparado ao terbufós (Kwo=2,45x10<sup>2</sup>), assim como a sua solubilidade em água é maior (Sw=30,0 mg/L), indicando uma polaridade muito mais elevada. Sendo assim, os rendimentos para o tiabendazol foram baixos, sendo que o rendimento mais alto, de quase 70%, foi obtido a 500 bar e 60 °C usando CO<sub>2</sub>-SC. Devido à alta densidade do CO<sub>2</sub>-SC a esta pressão, o poder de solvência deste solvente para todos os compostos é significativamente aumentada. Para o Soxhlet, o rendimento também diminuiu obtendo um valor de 81,25%. Isso é reflexo do baixo valor do coeficiente de partição, de forma que o tiabendazol interagiu fracamente com o etanol (solvente utilizado na extração convencional), obtendo um rendimento mais baixo para este agrotóxico.

O bromuconazol apresenta um coeficiente de partição cuja ordem de grandeza é intermediária entre os agrotóxicos supracitados (Kwo=1,74x10<sup>3</sup>) e uma solubilidade em água mais elevada do que os demais (Sw=48 mg/L). Isso refletiu diretamente nos seus resultados de rendimentos, que variaram de 26,92% a 97,33% para a EFSC. O melhor resultado, assim como no tiabendazol, ocorreu a 500 bar e 60 °C. Já para o Soxhlet o rendimento foi de 100%.

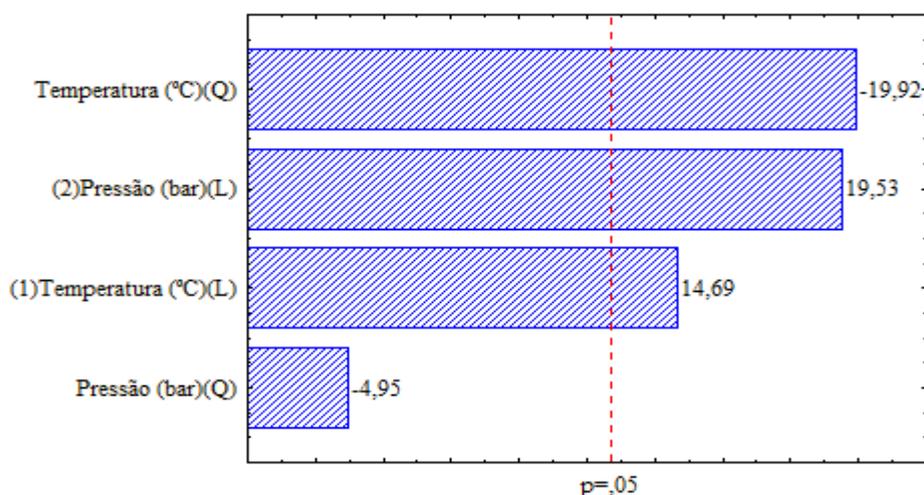
De modo geral, pode-se afirmar que, com exceção do agrotóxico tiofanato metílico (rendimento de 37,50%), o método convencional foi mais seletivo do que a tecnologia supercrítica. Apesar disso, para a maioria dos compostos a tecnologia usando CO<sub>2</sub>-SC também foi seletiva. Esta técnica utiliza menos quantidade de solvente, que é atóxico e é facilmente eliminado do extrato pela despressurização do sistema. Além disso, é mais rápida do que a extração convencional, onde foram estabelecidas 7 horas de extração.

Assim, a fim de avaliar a influência das variáveis independentes (temperatura e pressão) nos rendimentos dos agrotóxicos (R%) abordados na Tabela 13, estas variáveis foram analisadas estatisticamente no nível de confiança de 95% (p ≤ 0,05). Os coeficientes de regressão lineares (L) e quadráticos (Q), o erro padrão e a significância estatística (p-valor) estão listados na Tabela 13.

**Tabela 13** - Coeficientes de regressão, erro padrão e p-valor, obtidos para o rendimento dos agrotóxicos.

Fatores	Coefficiente de Regressão	Erro padrão	P-valor
Temperatura (L)	6,50827	0,30776	0,043272
Temperatura (Q)	-0,05089	0,00255	0,031928
Pressão (L)	0,22782	0,03191	0,032575
Pressão (Q)	-0,00022	0,00005	0,126814

De acordo com a Tabela 13, o efeito da pressão quadrática não foi significativo, visto que o p-valor foi maior do que 0,05. É importante saber que, quanto menor a magnitude do p-valor, mais significativo é o coeficiente correspondente. Isso implica dizer que a variável com maior efeito sobre o rendimento de agrotóxicos foi a temperatura (Q). Esse resultado é corroborado com a interpretação do gráfico de Pareto (Figura 21).



**Figura 21** - Gráfico de Pareto para a análise do rendimento dos agrotóxicos

As alturas das barras fornecem os resultados dos efeitos das variáveis e estão dispostas em ordem decrescente, corroborando a maior influência da temperatura (Q). Como observado na Figura 21, todas as variáveis, com exceção da pressão (Q), são estatisticamente significativas. As variáveis pressão (L) e temperatura (L) tiveram efeitos positivos sobre o rendimento dos agrotóxicos, ou seja, o aumento do seu nível proporciona um aumento do rendimento. Já para a variável temperatura (Q) foi observado um efeito negativo sobre a extração dos agrotóxicos, indicando que o aumento deste fator não contribuiu para a remoção dos mesmos.

Para avaliar a qualidade do ajuste do modelo, utilizou-se a Tabela 14, que ilustra os principais efeitos para análise de variância (ANOVA) em um intervalo de 95% de confiança.

Através do teste F (Tabela 14), verifica-se que a análise de regressão também foi significativa, uma vez que o valor do  $F_{cal}$  (16,6516) foi maior que o  $F_{tab}$  (4,7571). O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) neste caso foi de 0,9167, o que indica que o modelo é capaz de explicar 91,67% da variação total dos parâmetros experimentais observados.

**Tabela 14** - Análise de Variância para o rendimento dos agrotóxicos.

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F- calculado	F- tabelado	P-valor
Regressão	1164,7135	3	388,2378	16,4956	4,7571	0,0027
Resíduo	141,2150	6	23,5358			
Total	1305,9285	9				

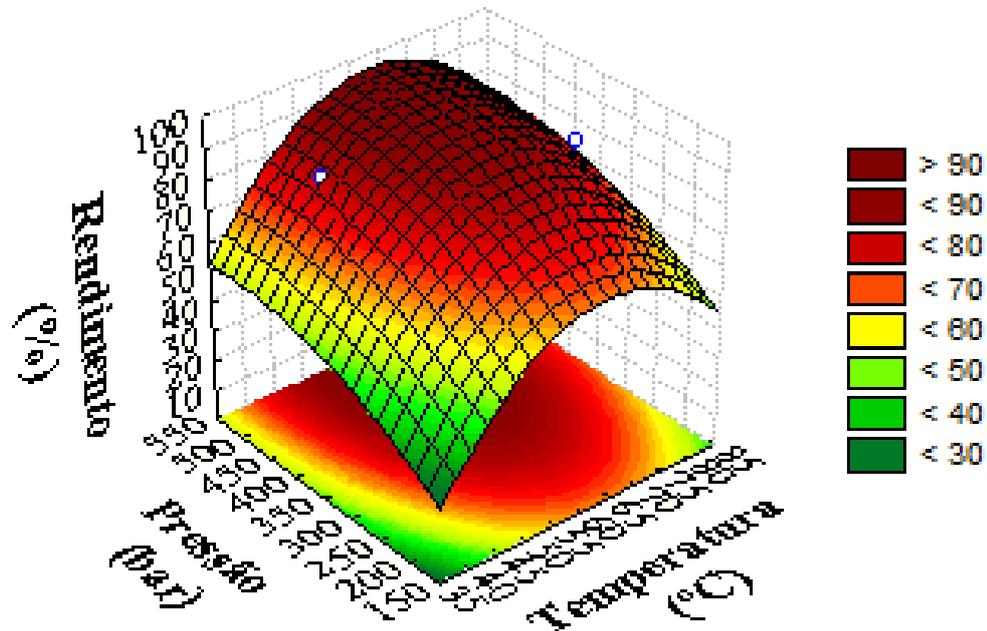
\*O coeficiente de determinação do modelo ( $R^2$ ) foi igual a 0,9141.

Com isso, conclui-se que o modelo é válido e apropriado para representar as relações entre os parâmetros analisados. Na Equação 22 é apresentado o modelo codificado de segunda ordem que descreve as superfícies de resposta para o rendimento dos agrotóxicos, considerando todas as variáveis significativas geradas pelo ANOVA.

$$y = -170,3182 + 6,5083 \times T - 0,05089 \times T^2 + 0,2278 \times P \quad (22)$$

sendo y o rendimento em massa dos agrotóxicos extraídos, T a temperatura experimental e P a pressão experimental.

A Figura 22 apresenta a superfície de resposta que ilustra o rendimento da extração em função da temperatura e da pressão, definindo as condições mais adequadas que maximizam a variável dependente (Rendimento de extração).



**Figura 22** - Superfície de resposta relacionando o rendimento dos agrotóxicos em função da temperatura e da pressão.

Analisando a superfície de resposta gerada pelo modelo de segunda ordem, pode ser observada uma região otimizada em pressões mais elevadas. Os dados indicam que, em qualquer temperatura, o rendimento da extração e, conseqüentemente, a concentração de

agrotóxicos irá aumentar com o aumento da pressão. Já para o efeito da temperatura, o comportamento observado não foi homogêneo para toda a superfície de resposta. Ao aumentar a temperatura em pressões mais baixas como a de 200 bar, percebe-se que até cerca de 60 °C, o rendimento foi aumentado para até 80%. No entanto, ao se elevar a temperatura, nesta mesma pressão, é nítido um decréscimo da remoção dos agrotóxicos, refletindo em um rendimento menor que 60%. Esse efeito pode ser visualizado até a pressão de 350 bar. A partir desta pressão, percebe-se que com o aumento da temperatura, aumenta-se também o rendimento da extração, de forma a obter um rendimento acima de 90% em temperaturas mais elevadas.

### 5.7 Resultados dos Agrotóxicos Extraídos Frente aos dos Extratos Brutos Obtidos da Farinha de Banana Verde

A fim de comparar os resultados obtidos pelas análises quanto aos agrotóxicos e aos extratos brutos, a Tabela 15 mostra a diferença entre as principais variáveis no processo de extração.

**Tabela 15** - Comparação entre as variáveis para a extração dos agrotóxicos e do extrato bruto.

Fatores	Rendimentos (%)	
	Extrato Bruto	Agrotóxicos Extraídos
R <sup>2</sup>	0,6986	0,9141
Variáveis significativas	P(L) > T(L) > P(Q) > T(Q)	- T(Q) > P(L) > T(L)
Condição ótima	350 bar e 80 °C	500 bar e 60 °C

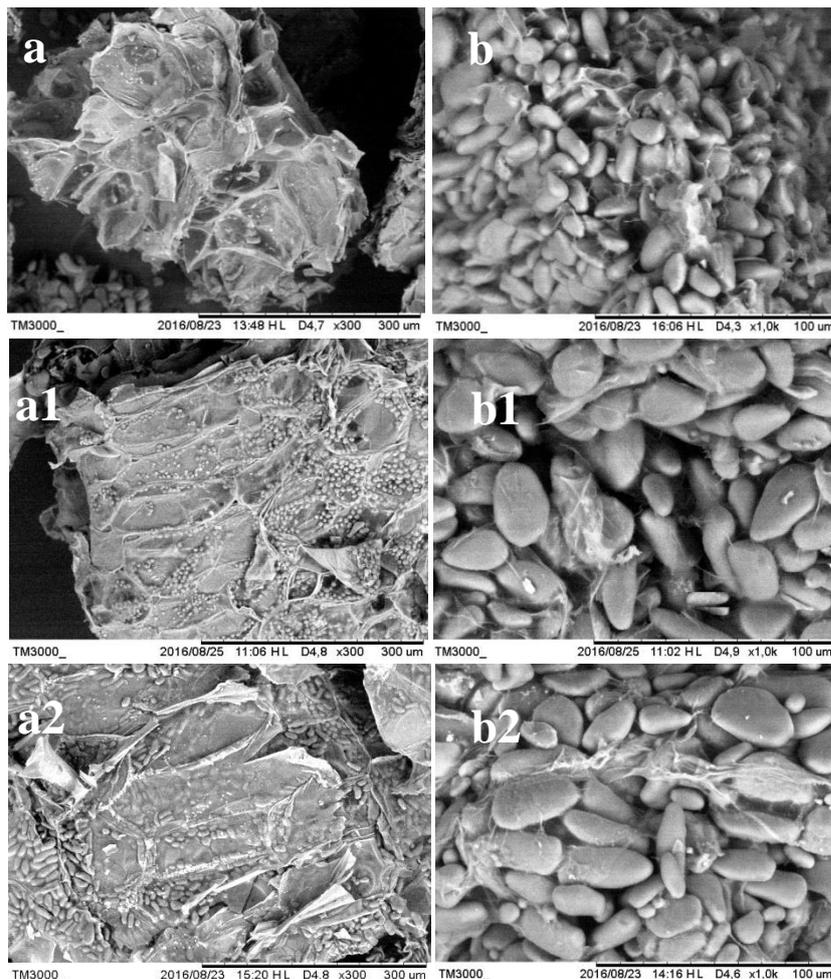
Pode-se observar na Tabela 15 que o modelo que mais se ajustou aos dados experimentais foi o referente às análises dos agrotóxicos, obtendo um coeficiente de determinação de 0,9141 frente ao de 0,6986, do extrato bruto. Isso indica que os dados experimentais foram melhor representados pelo modelo gerado das análises estatísticas. De fato, ao analisar as variáveis significativas, de acordo com o ANOVA, a pressão linear foi mais significativa do que a temperatura linear, sendo condizente com o resultado obtido experimentalmente, que apontou o melhor rendimento dos agrotóxicos na maior pressão a que o sistema foi submetido.

É fundamental constatar também que os agrotóxicos presentes na banana influenciaram fortemente na seletividade do solvente em relação ao soluto. Isso corrobora com o fato de que as condições ótimas para as análises foram distintas.

Além disso, ao analisar o extrato bruto no ponto experimental a 500 bar e 60 °C, esperava-se que o aumento da densidade do CO<sub>2</sub>-SC favorecesse a extração de compostos mais pesados e, conseqüentemente, se notaria um acréscimo relevante no rendimento do extrato bruto. Contudo, apesar disso não ter ocorrido, pode-se sugerir que a presença dos agrotóxicos dificultou a extração dos compostos mais pesados, que possivelmente seriam mais extraídos nesta condição. Isso pode ser corroborado com o fato de que o maior rendimento dos agrotóxicos ‘dificultaria’ a solubilidade de co-extraídos no CO<sub>2</sub>-SC. Isso reflete em uma maior extração dos agrotóxicos em detrimento do óleo, havendo menor quantidade em massa do extrato.

## 5.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas na farinha de banana *in natura* e após a EFSC, a fim de observar o efeito do processo da extração supercrítica sobre as estruturas físicas das partículas das cascas e polpas que constituem a farinha. Para esta análise foram selecionadas as condições extremas de pressão e de temperatura referentes ao planejamento experimental, em condições isotérmicas e isobáricas. Na Figura 23 são ilustradas as micrografias das condições isotérmicas investigadas a 500 bar - 60 °C e 200 bar - 60 °C.



**Figura 23** - Micrografias das amostras com ampliação de 300 vezes para a casca e de 10000 vezes para a polpa. Amostra *in natura* a. casca e b. polpa. Após extração a1. e b1. são as cascas e polpas, após a EFSC a 200 bar – 60 °C e a 500 bar a 60°C, respectivamente.

Resultados contraditórios foram encontrados na literatura sobre tendências no tamanho de partícula em função da pressão.

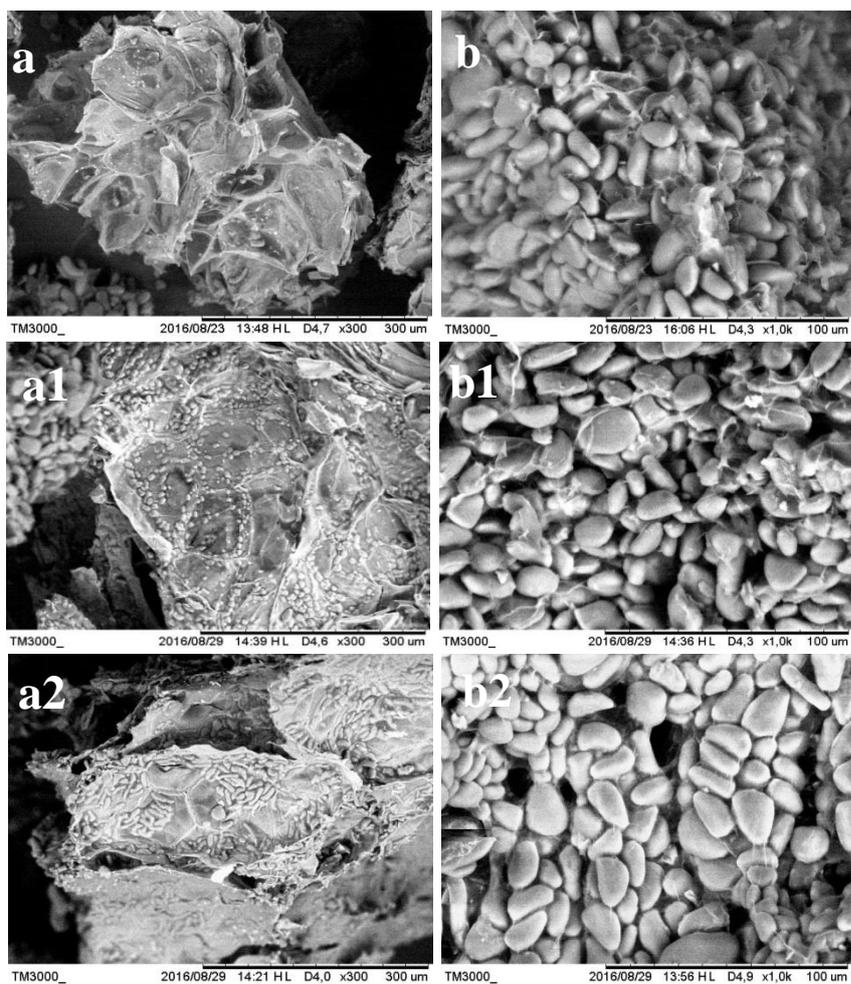
Bristow *et al.* (2001) mostraram que as partículas de acetaminofeno produzidas em baixas pressões ficaram mais aglomeradas em comparação com as partículas de cristal obtidas a alta pressão.

Já Wubbolts (2000) verificou, ao analisar a precipitação de colesterol a partir de soluções de éter dietílico, que os tamanhos das partículas eram ligeiramente sensíveis (maiores) a um aumento da pressão.

Nos experimentos onde foram mantidas condições isotérmicas, analisou-se a influência do aumento da pressão para as superfícies da farinha de banana. Pode-se observar na Figura 23 que, quando comparadas às partículas da farinha *in natura* (Figura 23 a e b), tanto na EFSC sob a condição mais amena (200 bar) quanto na mais elevada (500 bar), houve um aumento na deposição de partículas na superfície, sendo esta mais pronunciada na ESFC a pressão de 500 bar.

Além disso, é notória a aproximação dessas partículas, de forma que esse efeito aumenta com o aumento da pressão, sendo visível também um acréscimo no tamanho das mesmas, mais pronunciado nas partículas das polpas a1 e a2. Isto se deve ao fluxo do fluido supercrítico, levando ao deslocamento de micropartículas, a partir da parte interna da matriz vegetal até a sua superfície (SANTOS *et al.*, 2015), o que facilitaria a remoção dos extratos da parte interna da farinha. Isso pode ser corroborado também com o aumento dos rendimentos de extrato e agrotóxicos obtidos, que possivelmente foram facilitados pelo aumento desse fluxo de CO<sub>2</sub>.

Na Figura 24 são apresentadas as fotomicrografias em condições isobáricas (350 bar – 40 °C e 350 bar – 80 °C). De acordo com Suo *et al.* (2005), o efeito da temperatura em condições isobáricas, geralmente reflete em uma maior tendência das partículas se aglomerarem com o aumento da temperatura.



**Figura 24** - Micrografias das amostras com ampliação de 300 vezes para a casca e de 10000 vezes para a polpa. Amostra *in natura* a. casca e b. polpa. Após extração a1. e b1. são as cascas e polpas, após a EFSC a 350 bar - 40 °C e a2. e b2. cascas e polpas, após a EFSC a 350 bar - 80 °C, respectivamente.

Assim, analisando as fotomicrografias na Figura 24 foi possível perceber que o efeito da temperatura em condições isobáricas, apresentou esse mesmo comportamento. Percebe-se, nitidamente, que conforme a temperatura é aumentada, existe uma tendência estatística da distribuição das partículas diminuírem. Esse mesmo efeito foi reportado por Subra *et al.* (2005).

Diante disso, as análises das imagens obtidas pelo MEV sugerem que os aumentos nos rendimentos de agrotóxicos e de extratos bruto podem também ser explicados pelos efeitos físicos evidenciados sobre a superfície das partículas. É possível ainda notar que as biomassas não foram danificadas após serem submetidas à alta pressão.

## 5.9 Modelagem Matemática dos Resultados

A seguir são apresentados os resultados dos modelos matemáticos aplicados nesse trabalho. É de suma importância salientar que não foi possível analisar os modelos matemáticos em relação somente aos agrotóxicos, visto que a análise dos mesmos foi feita com a amostra final residual e não na solução extraída em diferentes tempos operacionais.

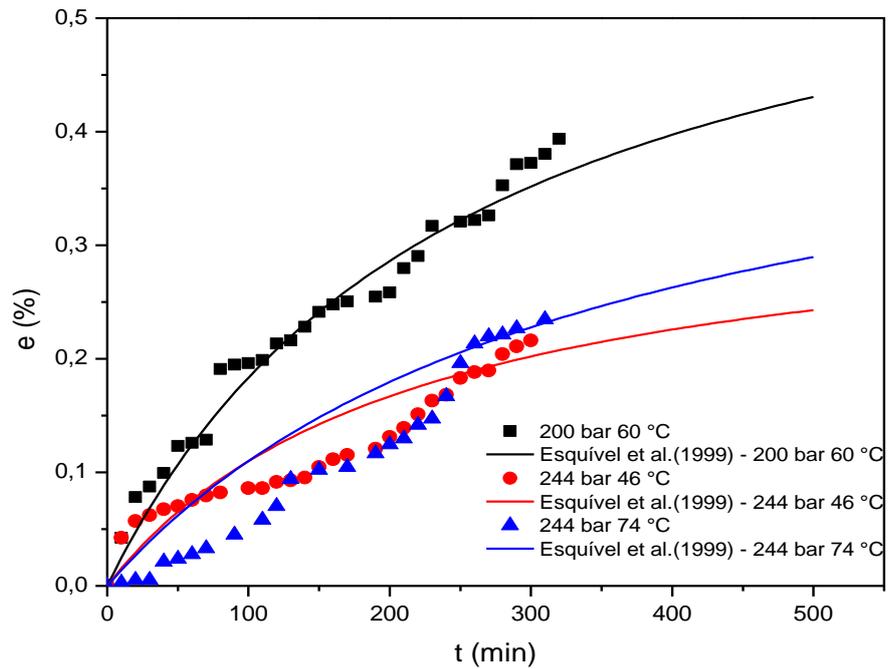
A estimativa dos parâmetros dos modelos de Esquível *et al.* (1999), Reverchon & Osseo (1994) e Zeković *et al.* (2003) foram realizadas através do programa Statistica. Para o modelo de Esquível *et al.* (1999), o rendimento ( $e\%$ ) foi calculado de acordo com a Equação 1 (apresentada na seção 4.2.9). Com relação ao cálculo da carga livre de soluto, foi considerada a quantidade de extrato (óleo e agrotóxicos) obtida na farinha fortificada (5,75%) e quantificada através do Soxhlet. Os valores dos parâmetros estimados e dos respectivos desvios para o modelo de Esquível *et al.* (1999) são apresentados na Tabela 16.

**Tabela 16** - Dados experimentais e calculados pelo modelo de Esquível *et al.* (1999) relativos à extração dos agrotóxicos presentes na farinha da Musa spp. com CO<sub>2</sub>-SC.

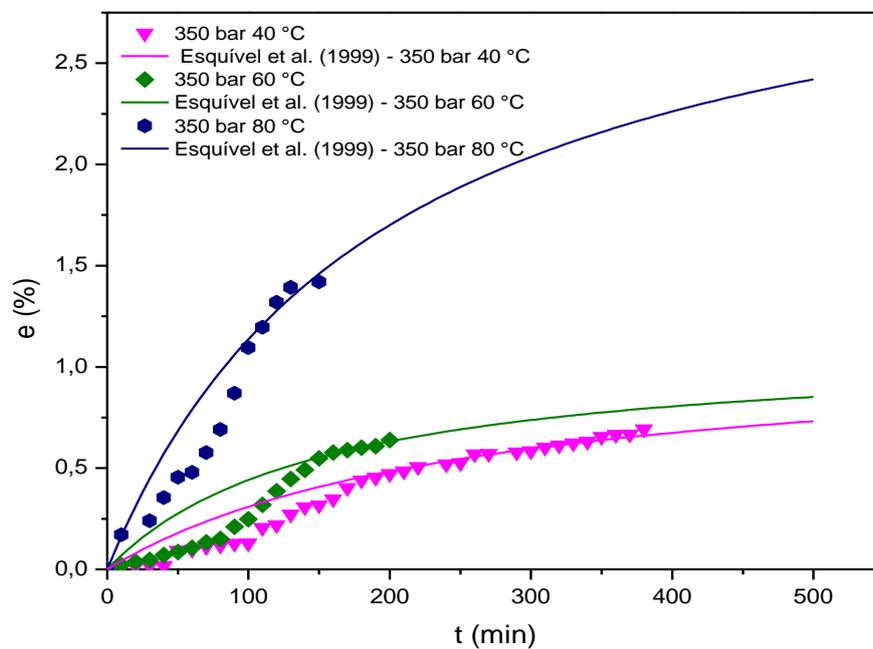
Pressão (bar)	Temperatura (°C)	$e_{exp}$	$e_{lim}$	b	$e_{mod}$	DRM (%)
200	60	0,2161	0,649600	254,0674	0,3621	8,10
244	46	0,2346	0,348433	217,3587	0,2020	8,52
244	74	0,7500	0,489508	345,0478	0,2393	1,65
350	40	0,8995	1,110707	259,0127	0,6991	1,00
350	60	0,6921	1,109415	151,2598	0,6317	0,81
350	80	1,4194	3,373019	196,6657	1,4595	3,15
456	46	0,3937	1,530756	186,7555	0,7720	2,80
456	74	0,4400	2,918608	398,6868	0,9078	1,73
500	60	0,6380	0,937870	207,4865	0,4083	1,30

Para melhor interpretar os dados presentes na Tabela 16, é fundamental entender o conceito do parâmetro  $e_{lim}$ . Sua definição está atrelada ao máximo de óleo que pode ser extraído de uma matriz em uma determinada condição de temperatura e pressão em um tempo infinito de extração. Então, espera-se que esses valores sejam próximos aos obtidos experimentalmente, visto que foi observada a saturação da curva nas cinéticas de extração.

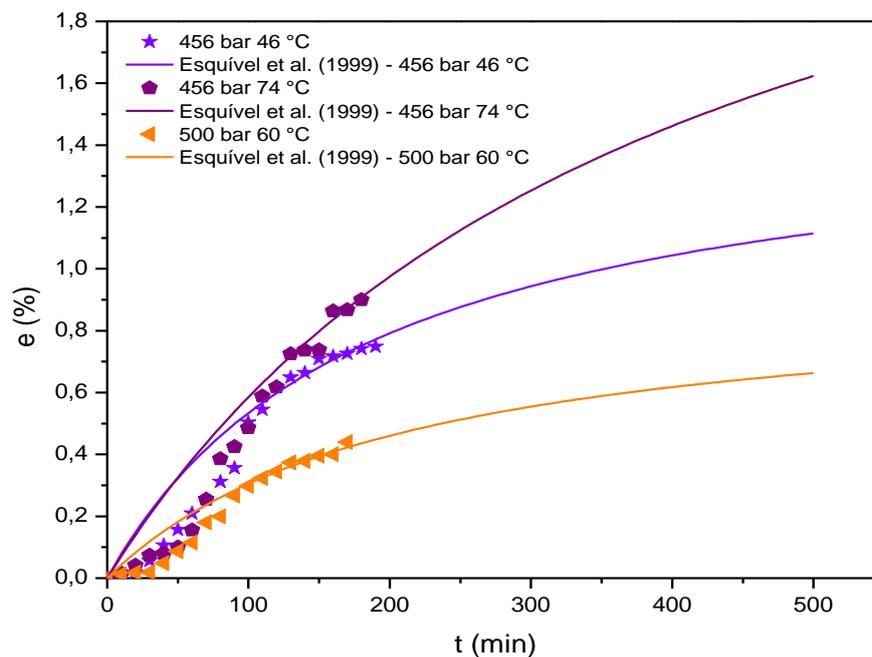
Com isso, pode-se observar que os valores de  $e_{lim}$  foram coerentes com os obtidos experimentalmente, já que estes foram próximos àqueles. Isso mostra que o modelo de Esquível *et al.* (1999), aplicado a essa dissertação, conseguiu representar a curva de extração, apresentando desvios que variaram de 0,81% a 8,52%, o que pode ser visualizado nas Figuras 25, 26 e 27.



**Figura 25** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Esquivel *et al.* (1999), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74°C.



**Figura 26** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Esquivel *et al.* (1999), a 350 bar - 40 °C, 350 bar - 60 °C e 350 bar - 80 °C.



**Figura 27-** Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Esquivel *et al.* (1999), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.

Diante das Figuras 25, 26 e 27, pode-se ver que para praticamente todas as condições experimentais, o modelo de Esquivel *et al.* (1999) conseguiu ter um bom ajuste aos dados experimentais. No entanto, ao observar as condições experimentais de 244 bar – 46 °C e de 244 bar – 74 °C (Figura 25), verifica-se que o modelo se ajustou bem apenas na terceira etapa do processo extrativo para a condição de 74 °C, cujo DRM foi de 1,65% e, para a temperatura de 46 °C, o modelo conseguiu representar as etapas inicial e final do processo, porém teve um DRM igual a 8,52%.

Resultados semelhantes foram obtidos pelos autores Silva *et al.* (2008), que estudaram o modelo de Esquivel *et al.* (1999) para representar os dados experimentais da extração supercrítica provenientes do óleo da noz-macadâmia. De acordo com esses autores, o modelo proposto representou bem o processo inicial de extração, porém obtiveram altos desvios.

Ao analisar a Figura 27, especificamente nas condições de 456 bar, observa-se um comportamento similar ao ocorrido nas mesmas condições experimentais citadas anteriormente. A esta pressão, o modelo apenas conseguiu se ajustar à terceira etapa da extração, para ambas as temperaturas.

Os autores Comim *et al.* (2010) também utilizaram o modelo proposto por Esquivel *et al.* (1999) para modelagem dos dados experimentais obtidos na extração do óleo da casca de banana. Eles observaram uma boa representação dos resultados experimentais para este modelo, com o erro quadrático médio variando de 0,00215 a 0,00950.

A estimação dos parâmetros dos modelos de Reverchon & Osseo (1994) e Zeković *et al.* (2003), foram realizadas através do programa Statistica. O rendimento normalizado e o desvio (DRM %) foram calculados através das Equações 4 e 16, respectivamente. Para os modelos de Reverchon & Osseo (1994) e Zeković *et al.* (2003), o rendimento normalizado (RNcalculado %) e o desvio (DRM %) foram calculados através das Equações 4 e 16, respectivamente.

Os valores dos rendimentos e dos respectivos desvios dos modelos podem ser vistos nas Tabelas 17 e 18.

**Tabela 17** - Dados calculados e desvio relativo obtido para o modelo de Reverchon & Osseo (1994) nas diferentes condições de pressão e temperatura.

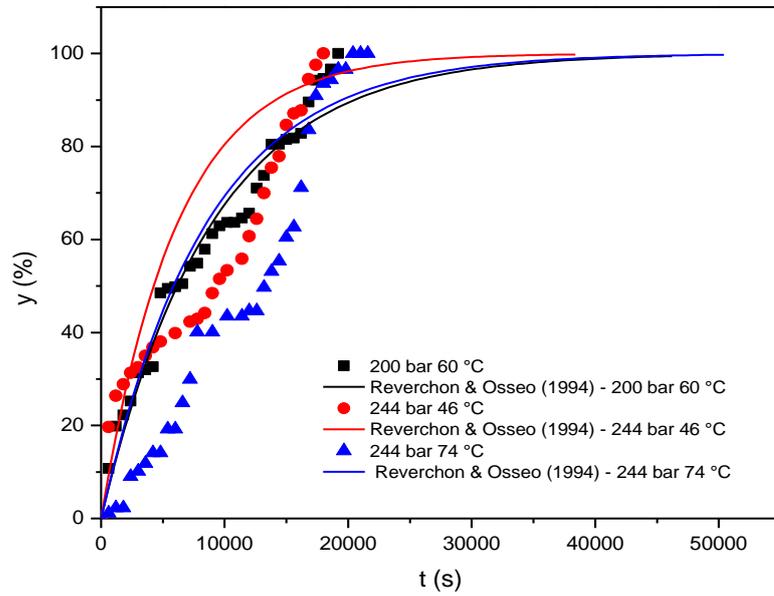
Pressão (bar)	Temperatura (°C)	RN <sub>Calculado</sub> (%)	ti	DRM (%)
200	60	88,4412	8898,2560	8,6716
244	46	94,6985	6128,3330	4,8876
244	74	91,0382	8457,0270	7,8896
350	40	88,8075	10411,3100	7,9941
350	60	86,5276	5986,4430	16,9682
350	80	91,4590	3658,1070	8,1973
456	46	99,8005	1254,6500	0,4895
456	74	83,5508	5983,7290	17,3205
500	60	86,3131	5128,8950	9,8146

**Tabela 18** - Dados calculados e desvio relativo obtido para o modelo de Zeković *et al.* (2003) nas diferentes condições de pressão e temperatura.

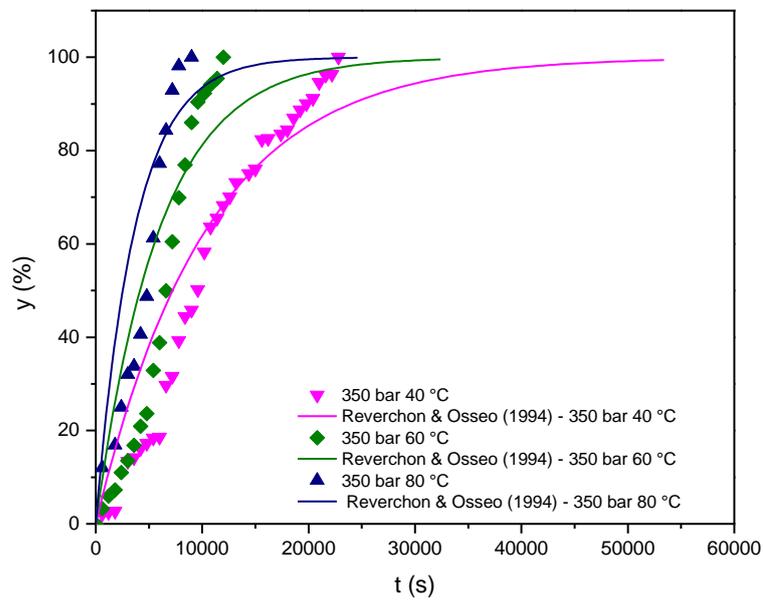
Pressão (bar)	Temperatura (°C)	RN <sub>Calculado</sub> (%)	a	B	DRM (%)
200	60	87,9544	-0,3917	-0,0280	6,9413
244	46	87,6334	-0,3747	-0,2166	8,6675
244	74	93,8508	-0,5027	0,3112	16,8530
350	40	93,3156	-0,5577	0,7340	2,5477
350	60	94,9467	-1,4606	1,8834	5,8545
350	80	96,0310	-2,0942	2,0088	6,3193
456	46	99,8004	-2,8690	-0,0003	0,4894
456	74	85,5112	-0,6655	0,0646	12,1826
500	60	93,3485	-1,3445	1,0992	2,9830

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 17 e 18, pode-se notar que para ambos os modelos empíricos, os DRM foram satisfatórios e variaram de 0,4895% (456 bar e 46 °C) a 17,3205% (456 bar e 74 °C), para o modelo de Reverchon & Osseo (1994), e de 0,4894% (456 bar e 46 °C) a 16,8530% (244 bar e 74 °C), para o modelo de Zeković *et al.* (2003).

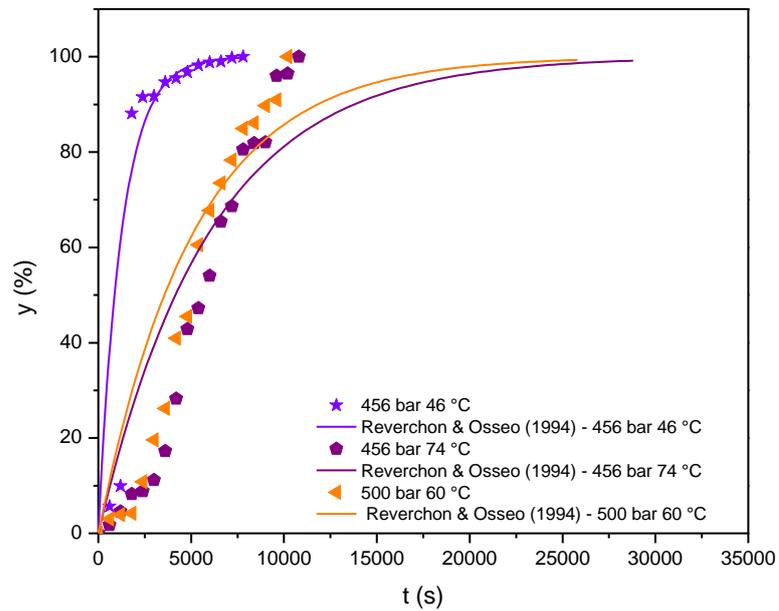
Diante dessa similaridade entre os desvios dos dois modelos, presume-se, de imediato, que o comportamento dos ajustes dos modelos também foi parecido. Nas Figuras 28, 29 e 30 pode-se visualizar o ajuste do modelo de Reverchon & Osseo (1994) e nas Figuras 31, 32 e 33, o ajuste do modelo de Zeković *et al.* (2003) frente aos resultados obtidos experimentalmente.



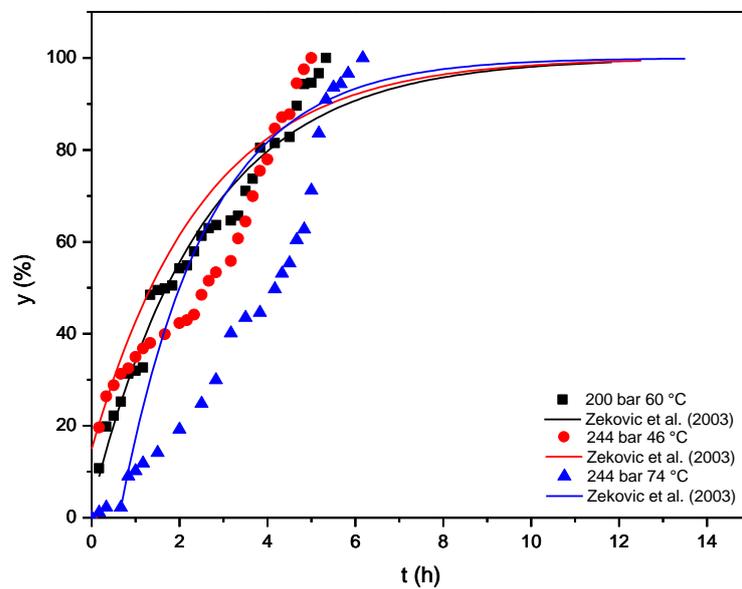
**Figura 28** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Reverchon & Osseo (1994), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74 °C.



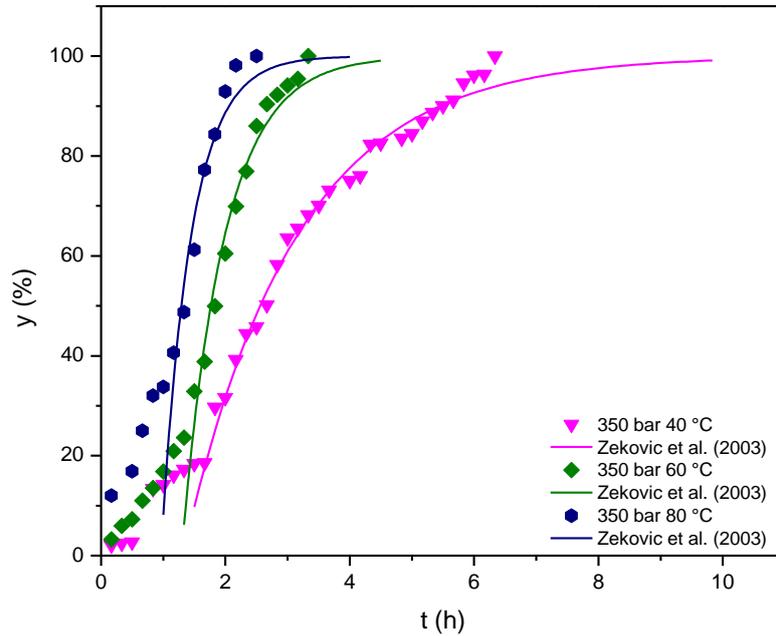
**Figura 29** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Reverchon & Osseo (1994), a 350 bar - 40 °C, 350 bar - 60°C e 350 bar - 80 °C.



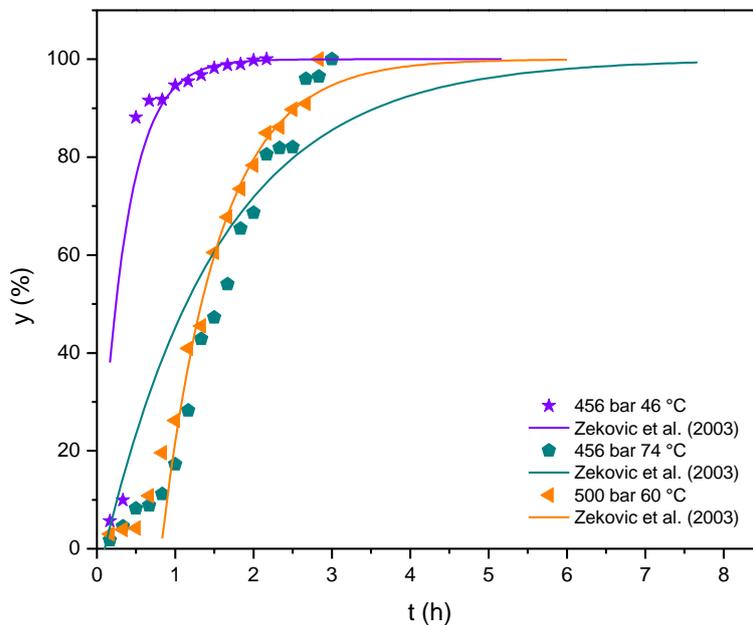
**Figura 30** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Reverchon & Osseo (1994), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.



**Figura 31** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Zeković et al. (2003), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74 °C.



**Figura 32** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Zeković et al. (2003), a 350 bar – 40 °C, 350 bar – 60°C e 350 bar – 80 °C.



**Figura 33** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Zeković et al. (2003), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.

Observa-se, para ambos os modelos, que o modelo conseguiu um bom ajuste em praticamente toda a curva a 350 bar e 40 °C, 60 °C e 80 °C, de 200 bar e 60 °C e de 500 bar e

60 °C. Entretanto, para os dados experimentais obtidos nas condições de 46 °C a 244 bar e 456 bar, os modelos somente representaram a etapa decrescente da extração (primeira etapa). Além disso, nas temperaturas de 74 °C e pressões de 244 bar e 456 bar, o modelo não se ajustou bem.

Para a modelagem das curvas de extração pelo modelo de Sovová (1994) são necessários alguns dados inerentes ao sistema estudado, tais como: quantidade máxima possível de soluto extraído, carga livre de soluto, massa extraída no primeiro ponto, densidade do fluido, densidade do soluto, porosidade, vazão volumétrica e vazão mássica. Os resultados da densidade e porosidade do soluto foram apresentados na seção 5.3. Para cada curva foram estimados os parâmetros referentes a cada condição operacional, obtendo-se assim o desvio relativo de cada uma, como mostrado na Tabela 19.

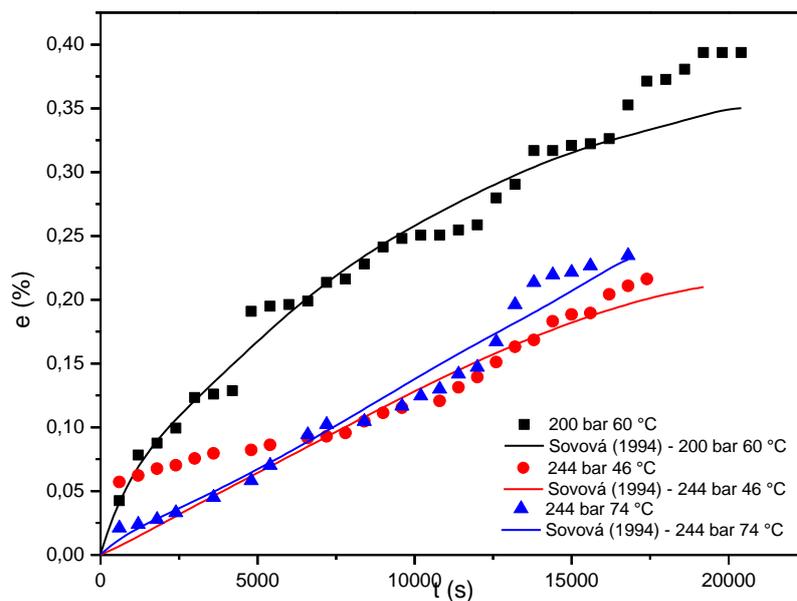
**Tabela 19** - Parâmetros do modelo e desvios relativos para cada condição de operação.

Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Parâmetros do Modelo			DRM (%)
		$K_{fao}$	$K_{sao}$	$X_k$	
200	60	0,2332	1,12E-04	0,8854	5,8104
244	46	0,0013	9,53E-05	0,1100	7,0361
244	74	1,0043	0,04020	0,5800	8,6353
350	40	0,0058	1,14E-04	0,9495	10,9574
350	60	0,0127	2,61E-04	0,9861	13,5952
350	80	1,9953	3,45E-04	0,9380	10,3102
456	46	2,5543	0,00110	0,6533	4,3976
456	74	0,0063	3,75E-04	1,0000	11,8439
500	60	0,0014	5,60E-04	0,9901	3,9639

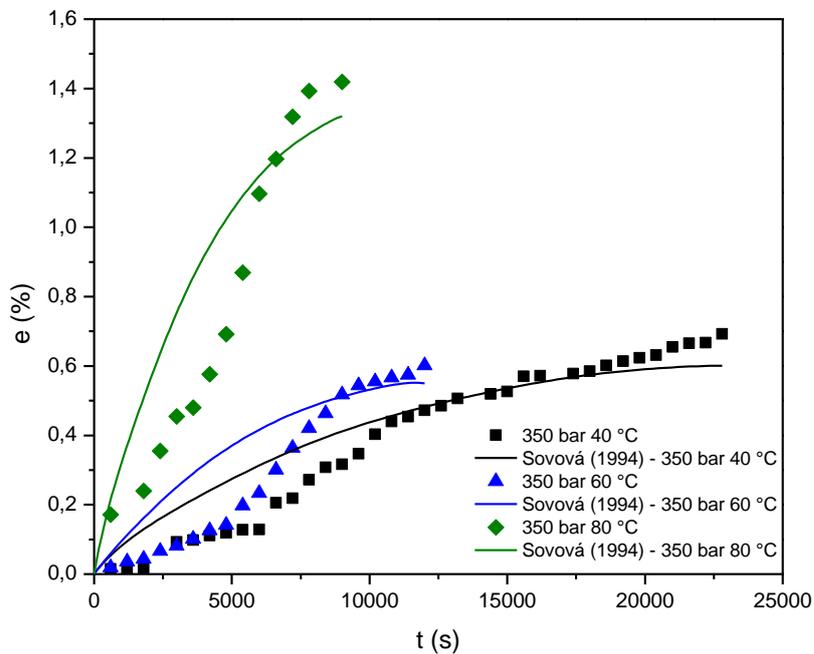
Diante dos resultados apresentados na Tabela 19, é possível assinalar uma relação entre o valor da constante de transferência de massa da fase fluida ( $k_{fao}$ ) e o da constante da fase sólida ( $K_{sao}$ ). Percebe-se que os valores do  $K_{sao}$  foram muito inferiores aos do  $K_{fao}$ . Weinhold e colaboradores (2008) explicam que o soluto intrínseco às partículas tem mais dificuldade de ser dissolvido e, desta forma, leva mais tempo para atravessar a interface entre sólido e fluido, do que o soluto localizado na superfície das partículas. Assim, os menores valores de  $K_{sao}$  obtidos indicam que o mecanismo de difusão é menos representativo quando comparado com a convecção na EFSC dos agrotóxicos presentes na banana Vitória.

Um comportamento semelhante foi discutido por Aguiar (2011), ao investigar os ajustes dos parâmetros do modelo de Sovová (1994) para a EFSC do resíduo de pescada-olhuda. Esse autor também verificou, para ambas as condições investigadas em seu trabalho, que os valores de  $K_{sao}$  foram inferiores aos de  $K_{fao}$ , corroborando com os resultados aqui apresentados.

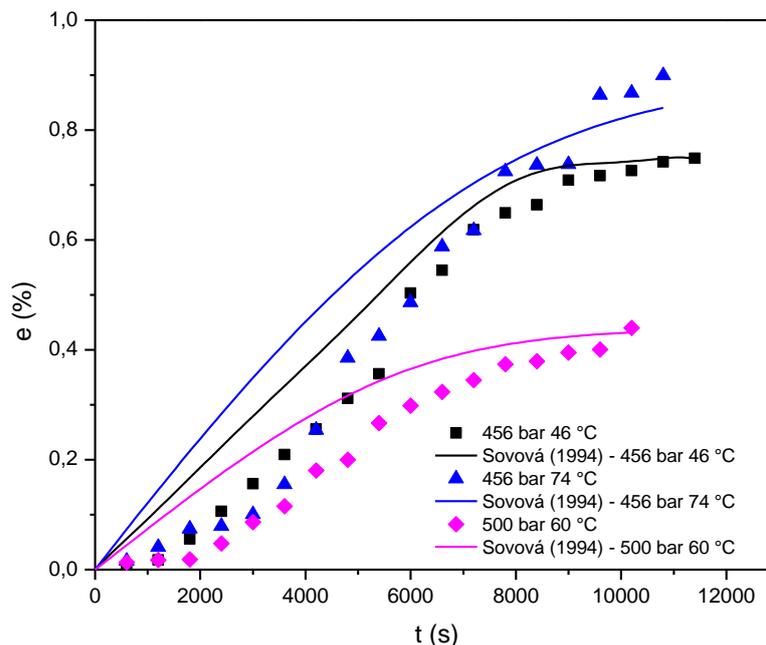
Nas Figuras 34, 35 e 36 são apresentadas as curvas cinéticas experimentais e as curvas preditas pelo modelo de Sovová (1994) para as condições operacionais estudadas.



**Figura 34** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Sovová (1994), a 200 bar - 60 °C, 244 bar - 46 °C e 244 bar - 74°C.



**Figura 35** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Sovová (1994), a 350 bar - 40 °C, 350 bar - 60°C e 350 bar - 80 °C.



**Figura 36** - Curvas de extração experimental e predita pelo modelo de Sovová (1994), a 456 bar – 46 °C, 456 bar – 74 °C e 500 bar – 60 °C.

Diante das curvas de extração, pode-se verificar que o modelo de Sovová (1994) apresentou o melhor ajuste para os dados experimentais na condição operacional de 60 °C - 200 bar, com desvios relativos de 5,8104%, mesmo que este não tenha sido o menor desvio. Nesta condição experimental, o modelo conseguiu representar as três fases da curva de extração.

Da mesma forma que ocorreu no modelo de Esquível *et al.* (1999) para a condição operacional de 244 bar – 46 °C, o modelo de Sovová (1994) também não apresentou boa concordância com os dados experimentais, apesar do DRM não ter sido o mais significativo dentre as condições investigadas (7,0361%). Já para a mesma pressão e temperatura de 74 °C, observa-se que o modelo teve um bom ajuste, representando praticamente todos os dados experimentais, gerando resultados mais representativos do que o modelo de Esquível *et al.* (1999).

Para as condições a 350 bar e 40 °C, 60 °C e 80 °C, o modelo apresentou um comportamento semelhante para todas essas condições, refletindo em um ótimo ajuste no período constante de extração.

De modo geral, percebe-se que a curva gerada pelo modelo representou os dados experimentais para a maioria das condições, descrevendo-os com maior coerência a etapa de extração constante (terceira etapa da EFSC).

Pereira (2016) também percebeu, em sua modelagem, que os pontos de menor desvio relativo, para o modelo de Sovová (1994), foram obtidos na etapa de extração constante dos ésteres de forbol extraídos da torta de pinhão manso.

Com isso, diante de tudo o que foi discutido até aqui foram resumidas, na Tabela 20, todas as informações referentes aos DRM de cada modelo para todas as condições experimentais.

**Tabela 20** - Desvios relativos para os modelos matemáticos aplicados às curvas de extração.

Pressão (bar)	Temperatura (°C)	DR <sub>Zekovic</sub> (%)	DR <sub>Reverchon&amp;Osseo</sub> (%)	DR <sub>Esquível</sub> (%)	DR <sub>Sovová</sub> (%)
200	60	6,9413	8,6716	8,1002	5,8104
244	46	8,6675	4,8876	8,5177	7,0361
244	74	16,8527	7,8896	1,6485	8,6353
350	40	2,5477	7,9941	1,0030	10,9574
350	60	5,8545	16,9682	0,8060	13,5952
350	80	6,3193	8,1973	3,1488	10,3102
456	46	0,4894	0,4895	2,7981	4,3976
456	74	12,1826	17,3205	1,7291	11,8439
500	60	2,9830	9,8146	1,2962	3,9639

Percebe-se, por fim, que o menor desvio relativo médio foi de 3,2275% obtido pelo modelo de Esquível *et al.* (1999), 6,9820% para o modelo de Zeković *et al.* (2003), 7,3590% para o modelo de Reverchon & Osseo (1994) e de 8,50% para o modelo de Sovová (1994).

### 5.10 Modelo de Chrastil (1982)

Devido à importância da predição da solubilidade e ao sucesso da aplicação do modelo de Chrastil (1982) para medir e prever a solubilidade de alguns agrotóxicos em CO<sub>2</sub>-SC, esse clássico modelo também foi aplicado nesta dissertação.

Para tanto, é necessário estabelecer e determinar algumas variáveis, tais como: solubilidade do sólido S (mg do soluto/L de solução) e a densidade do fluido  $\rho$  (mg/L), a uma dada temperatura T (K). Com isso, os dados de solubilidade obtidos nos experimentos foram correlacionados pelo modelo de Chrastil (1982) e o ajuste dos parâmetros para as condições operacionais do processo de extração foi realizado no software Statistica. O desvio relativo foi calculado para todos os resultados de solubilidade, calculados pelo ajuste da equação de Chrastil (1982).

Assim, os resultados experimentais da solubilidade dos agrotóxicos no solvente supercrítico da EFSC na farinha de banana fortificada e seus respectivos desvios são listados na Tabela 21.

De acordo com os dados experimentais da Tabela 21, foram estimados os três parâmetros para este modelo, sendo eles:  $k = 2,435398$ ,  $a = -2543,62$  e  $b = -29,9928$ .

O desvio médio do modelo (DRM) gerado, com a estimação dos parâmetros, foi de 26%. Observa-se ainda, na Tabela 21, os valores preditos e os DR's individuais para cada experimento, mostrando que o experimento 9 é responsável pelo maior desvio

Os resultados mostraram que a solubilidade experimental variou de 0,0052 mg/L a 0,0211 mg/L (mg agrotóxicos/L CO<sub>2</sub>), dependendo das condições operacionais. É possível perceber também uma relação entre essa solubilidade e a quantidade de agrotóxicos extraída, a partir das condições de T e P. A quantidade máxima de agrotóxicos extraída (0,0204 mg) ocorreu na condição de 500 bar e 60 °C, assim como a maior solubilidade experimental (0,0211mg/L). Já a menor solubilidade ocorreu a 350 bar e 60 °C (0,0052 mg/L) e a menor

quantidade de agrotóxicos (0,0120 mg), a 350 bar e 40 °C. Portanto, conclui-se que o aumento de P e de T implica também em um aumento da solubilidade.

**Tabela 21** - Dados experimentais ( $S_{exp}$ ) e preditos ( $S_{calc}$ ) pelo modelo de Chrastil (1982) das solubilidades dos agrotóxicos (mg de agrotóxicos / L de  $CO_2$ ) em  $CO_2$ -SC, para todas as condições experimentais.

Experimental	T (K)	P (bar)	m agrotóxicos (mg)	$V_{CO_2}$ (L)	$S_{exp}$ (mg/L)	Densidade (mg/L)	$S_{calc}$ (mg/L)	DR
1	319	244	0,0144	1,8120	0,0079	847343,0	0,0104	0,3146
2	319	456	0,0180	1,1476	0,0157	1006400,0	0,0153	0,0272
3	333	200	0,0159	1,9328	0,0082	722833,0	0,0093	0,1368
4	333	350	0,0191	1,2080	0,0158	863280,6	0,0139	0,1231
5	333	500	0,0204	0,9664	0,0211	983009,5	0,0185	0,1234
6	347	244	0,0156	1,8724	0,0083	705279,9	0,0111	0,3283
7	347	456	0,0185	1,0872	0,0170	933829,9	0,0207	0,2181
8	353	350	0,0177	0,9060	0,0195	789177,2	0,0156	0,2025
9	313	350	0,0120	2,2952	0,0052	935088,7	0,0097	0,8614

Assim, percebe-se que a condição operacional de 500 bar e 60 °C foi a que apresentou maior solubilidade dos agrotóxicos no  $CO_2$ -SC. Esse resultado corrobora com o apresentado pelas análises geradas no Statistica para os agrotóxicos extraídos, onde também foi observado o maior rendimento em massa dos agrotóxicos, na mesma condição experimental. O mesmo ocorreu com a condição experimental de menor rendimento em massa de agrotóxicos, comprovando então a menor solubilidade desses compostos no solvente supercrítico.

A tendência observada para todas as condições experimentais foi um aumento na solubilidade tanto com o aumento da pressão, a temperatura constante, quanto com o aumento da temperatura, a pressão constante. A influência da temperatura na solubilidade dos compostos está relacionada com a combinação dos efeitos entre a densidade do solvente, que é reduzida pelo aumento da temperatura, e a pressão de vapor do soluto, que é elevada com o aumento desta. Isso implica dizer que, existe uma competição entre esses efeitos e, segundo Galvão (2001), o efeito dominante dependerá da predominância de um sobre o outro.

Resultados similares foram apontados por Ciou & Su (2016), ao analisar a solubilidade do agrotóxico diuron em  $CO_2$ -SC através do modelo de Chrastil (1982). Esses autores observaram que o aumento da pressão, em condições isotérmicas, assim como o aumento da temperatura, em condições isobáricas, implicou em um aumento da solubilidade do agrotóxico em  $CO_2$ -SC. Eles mediram a solubilidade do diuron, que ficou entre as frações molares de  $8,72 \times 10^{-7}$  e  $1,63 \times 10^{-5}$ .

Leite (2005) também correlacionou as solubilidades do benzeno, tolueno, etilbenzeno, xileno e glifosato em  $CO_2$ -SC, por meio do modelo de Chrastil (1982). O modelo mostrou um bom ajuste com os dados experimentais, gerando um desvio relativo médio de 8%.

Observa-se que a estimação de parâmetros, usando a equação de Chrastil (1982), representou bem os dados experimentais. Os valores de solubilidade calculados estão na mesma ordem de grandeza que os observados experimentalmente e os desvios foram baixos, exceto a 350 bar e 313 K, em que o desvio obtido foi maior e os valores da solubilidade preditos ficaram bem acima dos valores encontrados experimentalmente.

Diante disso, conclui-se que o modelo proposto por Chrastil (1982) mostrou boa concordância com os dados experimentais da solubilidade obtidos na EFSC. A informação original e útil sobre a solubilidade dos agrotóxicos em CO<sub>2</sub>-SC é indicativa e facilitaria economicamente o estabelecimento de um sistema de extração com CO<sub>2</sub>-SC escalonado para estes compostos.

## 6 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

A extração com fluido supercrítico foi capaz de extrair os agrotóxicos presentes na matriz sólida. Observou-se que a melhor condição de extração dos mesmos ocorreu a 500 bar e 60 °C.

O método convencional usando o Soxhlet extraiu quase na totalidade os agrotóxicos, porém a farinha permaneceu contaminada com solvente orgânico.

Após a extração com CO<sub>2</sub>-SC, a biomassa residual e a farinha da banana *in natura* são promissoras para serem direcionadas em diversas áreas como para ração animal e biofertilizante, devido à manutenção de suas propriedades. Entretanto, deve se levar em conta que a mesma ainda continha a presença de alguns agrotóxicos, mesmo que em concentrações traço.

Os modelos cinéticos foram aptos a representar a extração dos agrotóxicos, apresentando desvio máximo de 17,3205% na condição de 456 bar e 74 °C para o modelo de Reverchon & Osseo (1994) e mínimo de 0,4894% na condição de 456 bar e 46 °C, para o modelo de Zeković *et al.* (2003).

Pode-se constatar pelo modelo de Chrastil (1982) que a solubilidade do grupo de agrotóxicos analisado aumentou com o aumento da pressão e da temperatura do sistema. A quantidade máxima de agrotóxicos extraída (0,0204 mg) ocorreu na condição de 500 bar e 60 °C, assim como a maior solubilidade experimental (0,0211mg/L). Já a menor solubilidade ocorreu a 350 bar e 60 °C (0,0052 mg/L) e a menor quantidade de agrotóxicos (0,0120 mg), a 350 bar e 40 °C. Portanto, conclui-se que o aumento de P e de T implica também em um aumento da solubilidade.

Como sugestões para trabalhos futuros, tem-se ideias como:

- desenvolver uma metodologia para a análise do extrato (óleo + agrotóxico), ainda não disponível no Brasil;
- realizar um estudo termodinâmico de modo a encontrar as melhores condições de T e P, visando maximizar a solubilidade dos agrotóxicos;
- variar a vazão de CO<sub>2</sub> e implantar o uso de co-solventes para a melhora do rendimento da extração;
- fazer testes de extração somente com a polpa, de modo a verificar os níveis de contaminação.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, K. A.; MOHAMED, A.; ABDULAMIR, A.S.; ABAS, H.A. A review on supercritical fluid extraction as new analytical method. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*; v. 4, n. 345. p. 345-353, doi:10.3844/ajbbs, 2008.
- AGNEESSENS, R.; ZENON - ROLAND, L.; NANGNIOT, P. Analysis of Pesticides Residues by HPLC. Part 2: Determination of fungicides and Inseticides Residues in Various Crops. *J. High Resol. Cromatogr.*, 1984.
- AGUIAR, A.C. Extração de lipídeos de resíduos de filetagem de pescada-olhuda (*Cynoscion striatus*) utilizando tecnologia supercrítica [dissertação] / ANA CAROLINA DE AGUIAR; orientadora, Prof. Dr. Julian Martínez. - Florianópolis, SC, 2011.
- AHARONSON, N.; LEHOTAY, S.J.; IBRAHIM, M.A. Supercritical fluid extraction and HPLC analysis of benzimidazole fungicides in potato, apple, and banana. American Chemical society. *J. Agric. Food Chem.* v. 42, no. 12, p 2817-2823, 1994.
- ALKARKHI, A.F.M.; RAMLI, S.B.; YONG, Y.S.; EASA, A.M. Comparing physicochemical properties of banana pulp and peel flours prepared from green and ripe fruits. *Food Chemistry*, v. 129, p. 312–318, 2011.
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *JAOAC Int.* v. 86, p. 412–431, 2003.
- ANNADURAI, G.; JUANG, R.S.; LEE, D.J. Adsorption of heavy metals from water using banana and orange peels. *Water Science and Technology.* v. 47, p 185–190, 2004
- ANVISA & UFPR. Seminário de mercado de agrotóxico e regulação. Brasília: ANVISA. (Acesso em: 11 de outubro de 2016).2012.
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Monografias autorizadas. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-autorizacoes/agrotoxicos/ produtos/monografia-de-agrotoxicos/autorizadas>>. Acesso em 30 out. 2016.
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos - PARA: relatório das análises de amostras monitoradas no período de 2013 a 2015. Brasília, 25 de novembro de 2016.
- AOAC INTERNATIONAL. *Official methods of analysis*. 16<sup>a</sup> ed., 3<sup>a</sup> rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, 1997. v.2, cap. 32, p.1-43.
- ARVANITOYANNIS, I.S.; MAVROMATIS, A. Banana cultivars, cultivation practices, and physicochemical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 49, p. 113-135, 2009.

ASBAHANI, A.E.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; AÏT ADDI, E. H.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. L.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F.N.R.; ELAISSARI, A. Review: Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 483, p. 220–243, 2015.

AURORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science and Technology*, v. 20, n. 2, p. 78-91, 2009.

BAKIRCI, G.; YAMAN, D.; BAKIRCI, F.; ÖTLEŞ, S. Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region, Turkey. *Food Chemistry*, v.160, p. 379-392, 2014.

BAKÓ, E.; DELI, J.; TÓTH, G. HPLC study on the carotenoid composition of calendula products. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, v.53, p. 241-250, 2002.

BAKRY, F.; CARREL, F.; CARUANA, M. L.; COTE, F. X.; JENNY, C.; TEZENAS, D. H. Les bananiers. Amélioration des plantes tropicales, *Cirad-Orstom*, p. 109– 139, 1997.

BARKER, S. A. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis. *Journal of chromatography. A*, v. 880, n. 1-2, p. 63–82, jun. 2000.

BARTLE, K.D.; CLIFFORD, A.A.; HAWTHORNE, S.B.; LANGENFELD, J.J.; MILLER, D.J.; ROBINSON, R.A.. A Model for Dynamic Extraction using Supercritical Fluid, *Journal Supercrit. Fluids*, v. 3, p 143, 1990.

BERNA, A., TÁRREGA, A., BLASCO, M, SUBIRATS, S. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oils from orange peel; effect of the height of the bed. *J. Supercrit. Fluids*, v. 18, p. 227–237, 2000.

BEZERRA, M.; DE OLIVEIRA, S.; FORTES, C. Banana: O produtor pergunta, a Embrapa responde. Embrapa Informação Tecnológica: Brasília, 2 ed., 2010.

BOTITSI, H.; ECONOMOU, A.; TSIPI, D.; Development and validation of a multi-residue method for determination pesticides in a processed fruits and vegetables using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, v. 389, p.1685-1695, 2007

BOWADT, S.; HAWTHORNE, S.B. *J. Chromatogr. A*, v. 703, p. 549-571, 1995.

BOWYER, J.R.; PLEIL, J.D. Comparison of Supercritical Fluid Extraction and Soxhlet Extraction of Organic Compounds from Carpet Samples, *J. Chromatogr. A*, v. 787, p. 171, 1997.

BRASIL, 2002. Decreto N° 4074, de 04/01/2002. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/d4074.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm)>

BRISTOW, S.; SHEKUNOV, T.; SHEKUNOV, B.; YORK, P. Analysis of the supersaturation and precipitation process with supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Supercrit. Fluids*, v. 21, p. 257–271, 2001.

BRUNNER, G. *Gas Extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation process*. Darmstadt, Alemanha: Steikopff, Springer, p. 387, 1994.

CAMEL, V. Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination. *Analisis Magazine*, v. 26, N° 6, 1998.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; REVILLA-RUIZ, P.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J.; *J. Chromatogr., A*, v. 1089, n. 1, 2005.

CARNEIRO, F.F; PIGNATI, W; RIGOTTO, R.M; AUGUSTO, L.G.S.; RIZOLLO, A; MULLER, N.M; ALEXANDRE, V.P. FRIEDRICH, K; MELLO, M.S.C. Dossiê ABRASCO –Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. ABRASCO, Rio de Janeiro, 1ª Parte, p. 98, abril de 2012.

CHAUDOT, X.; TAMBUTÉ, A.; CAUDE, M.; L'Extraction en Phase Supercritique: Un Nouvel Outil Analytique Performant Pour le Traitement de L'échantillon. *Analisis*, v.25, n. 81, 1996.

CHRASIL, J. Solubility of solids and liquids in supercritical gases, *Journal of Physical Chemistry*, v. 86, p. 3016-3021, 1982.

CIOU, L.L; SU, C.S. Measurement of solid solubilities of diuron in supercritical carbon dioxide and analysis of recrystallization by using the rapid expansion of supercritical solutions process. *J. of Supercritical Fluids*, v. 107, p. 753–759, 2016.

COMIM, S.R.R.; MADELLAA, K; OLIVEIRA, J.V.; FERREIRA, S.R.S. Supercritical fluid extraction from dried banana peel (*Musa spp.*, genomic group AAB): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria. *J. of Supercritical Fluids*, v. 54, p. 30–37, 2010.

CORREIA, M.; DELERUE-MATOS, C.; ALVES, A. Development of a SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, v. 369, n. 647, 2001.

CUI, H.; QIAN, S.; QIN, F.; Wang, C. Solubility of 2,3,5,6-Tetrachloropyridine in Supercritical CO<sub>2</sub>: Measurement and Correlation. *J. Chem. Eng.* v. 59, p. 269–274, 2014.

DAMS, R.I. Pesticidas: Usos e Perigos à Saúde e ao Meio Ambiente. *Revista Saúde e Ambiente*, v. 7, n. 2, p. 38-44, 2006.

DAVEY, M. W.; KEULEMANS, J.; SWENNEN, R. Methods for the efficient quantification of fruit provitamin A contents. *Journal of Chromatography A*, v. 1136, p. 176-184, 2006.

DUTTA, D.; CHAUDHURI, U.R.; CHAKRABORTY, R. Structure, health benefits, antioxidant property and processing and storage of carotenoids. *African Journal of Biotechnology*, v. 4, n. 13, p. 1510-1520, 2005.

EMAGA, T. H.; ANDRIANAIVO, R. H.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. *Food Chemistry*, v. 103, p. 590–600, 2007.

ESQUÍVEL, M.M.; BERNARDO-GIL, M.G.; KING, M.B. Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. *J. Supercrit. Fluids*, v. 16, p. 43–58, 1999.

FAOSTAT. Statistical Database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available in <<http://faostat.fao.org/>> Acesso em 3 de out. 2016.

FAOSTAT. FAO Statistical Database. Agricultural data. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>>. Acesso em: 10 dez. 2016.

FELDER, R.M.; ROUSSEAU, R.W. *Elementary Principles of Chemical Processes*. 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, New York, 2005.

FERREIRA, S.R.S. & MEIRELES, M.A., Modeling the Supercritical Fluid Extraction of Black Pepper (*Piper nigrum* L.) Essential Oil, *Journal Food Engineering*, v. 54, p 263, 2002.

FORERO-MENDIETA, J.R.; CASTRO-VARGAS, H.I; PARADA-ALFONSO, F.; GUERRERO-DALLOS, J. A. Extraction of pesticides from soil using supercritical carbon dioxide added with methanol as co-solvent. *J. of Supercritical Fluids*, v. 68, p. 64–70, 2012.

GALVÃO, L.E. *Extração do óleo essencial de Cymbopogon winterianus J. com CO2 pressurizado*. Programa de Pós Graduação de Engenharia química. NR:Natal, UFNR, Dissertação de Mestrado, 2001.

GIERGIELEWICZ-MOZAJSKA, H.; DABROWSKI, L.; NAMIEŚNIK, J. Accelerated solvent extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples – Some aspects of theory and practice. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, v. 31, n. 3, p. 149-165, 2001.

GONDIM, J.; MOURA, M.F.; DANTAS, A.; MEDEIROS, R.; SANTOS, K. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25 n. 4, p. 825-827, 2005.

GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, R.M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Decay of fungicide residues during vinification of white grapes harvested after the application of some new active substances against downy mildew. *Food Chemistry*, v. 125, n .2, p. 549–560, 2011.

GROSSO, C.V.; FERRARO, A.C.; FIGUEIREDO, J.B.; BARROSO, J.A.; COELHO, A.M. Palavra, *Food Chem.*, v. 111, p. 197, 2008.

GUNASEELAN, V. N. Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. *Biomass and Bioenergy*, v. 26, p 389–399, 2004.

HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition*, v. 17, p. 818 – 822, 2001.

HAWTHORNE, S. B.; MILLER, D. *J. Anal. Chem.*, v. 66, p. 4005- 4012, 1994.

HERNÁNDEZ, E.; ÁNGELES, A. *Comparação de métodos multiresíduos para determinação de produtos fitossanitários em polpa e casca de banana / Adriana de los Ángeles, Esquivel de Hernández. – Viçosa, MG, 99f. Orientador: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, 2015.*

HIGASHI, H.; IWAI, Y.; ARAI, Y. Solubilities and diffusion coefficients of high boiling compounds in supercritical carbon dioxide. *Chemical Engineering Science*, v. 56, n. 10, p. 3027–3044, maio 2001.

HOLSTEGE, D.M.; SCHARBERG, D.L.; TOR, E.R.; HART, L.C.; GALEY, F.D. A Rapid multiresidue screen for organophosphorus, organochlorine, and N-methyl carbamate insecticides in plant and animal tissue. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, v. 77, p. 1263, 1994.

HYOTYLAINEN, T.; TUUTIJARVI, T.; KUOSMANEN, K.; RIEKKOLA, M.L. Determination of pesticide residues in red wines with microporous membrane liquid-liquid extraction and gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* v. 372, n. 732, 2002. PMID:11941446. doi:10.1007/s00216-002-1242-x

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. Brasília: Anvisa, 2005.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry. Global availability of information on agrochemical. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/atoz.htm>>. Acessado em 30 de out. 2016.

IVANOVIC, J.; ZIZOVIC, I.; RISTIC, M.; STAMENIC, M.; SKALA, D. *J. Supercrit. Fluids*, v. 55, p. 983, 2011.

JAKUBOWSKA N, POLKOWSKA Z, NAMIESNIK J, PRZYJAZNY A. Analytical Applications of Membrane Extraction for Biomedical and Environmental Liquid Sample Preparation. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, v. 35, n. 217, 2002. doi:10.1080/10408340500304032

JARDIM, I.C.S.F; ANDRADE, J.A; QUEIROZ, S.C.N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. *Quim. Nova*, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.

JENNY, C.F.; CARREEL, K.; TOMEKPÉ, X.; PERRIER, C.; DUBOIS, J.P.; HORRY, H. Banana. in Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants. Edited by P. Hamon, M. Seguin, X. Perrier, J.C. Glaszmann. Enfield, Science Publishers, Montpellier. p. 99-124, 2003.

KAIHARA, A.; YOSHII, K.; TSUMURA, Y.; ISHIMITSU, S.; TONOGAI, Y. Multi-residue Analysis of 18 Pesticides in Fresh Fruits, Vegetables and Rice by Supercritical Fluid Extraction and Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Health Science*, v. 48, n. 2, p. 173–178, 2002.

KANAZAWA, K.; SAKAKIBARA, H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 844–848, 2000.

KAZAZI, H.; REZAEI, K.; JAVAD, S.; SHARIF, G.; EMAM-DJOMEH, Z.; YAMINI, Y. *Food Chem.*, v. 105, p. 805–811, 2007.

KNAPP, F.F.; NICHOLAS, H.J. The sterols and triterpenes of banana peel. *Phytochemistry*. v. 8, n. 1, p. 207-214, 1969.

KNEZ, Z.; RIZNER-HRAS, A.; KOKOT, K.; BAUMAN D. Solubility of some solid triazine herbicides in supercritical carbon dioxide, *Fluid Phase Equilib.*, v. 152, p. 95–108, 1998.

KOTNIK, P.; SKERGET, M; KNEZ, K. *J. Supercrit. Fluids*, v. 43, p 192, 2007.

KREUZIG, R.; KOINECKE, A.; BAHADIR, M. Use of supercritical fluid extraction in the analysis of pesticides in soil. *J. Biochem. Biophys. Methods*, v. 43, p. 403–409, 2000.

LANÇAS, F.M.; BARBIRATO, M.A.; GALHIANE, M.S.; RISSATO, S.R. Novas aplicações de sistemas para extração com fluido supercrítico (sfe) "home-made". Vi. Controle de agrotóxicos em produtos alimentícios. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 17, n. 4, Dec. 1997.

LASSOUDIÈRE, A. Le bananier et sa culture. Ed 4, Versailles, France, 2007.

LEHOTAY, S.J.; VALVERDE-GARCIA, A. Evaluation of different solid-phase traps for automated collection and clean-up in the analysis of multiple pesticides in fruits and vegetables after supercritical fluid extraction. *J. Chromatogr. A*, v. 69, 1997.

LEHOTAY, S.J. Determination of Pesticide Residues in Nonfatty Fooda by Percritical Extraction aqnd Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Collaborative Study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*; v. 85, n. 1148, 2002. PMid:12374416.

LEITE, A.O.B.; MENDES, M.F.; COELHO, G.L.V. Remediação de solo contaminado com BTEX e glifosato usando CO<sub>2</sub> como fluido supercrítico. *Revista Universidade Rural: Série Ciências Exatas e da Terra*, v. 24, n. 1-2, p.44-57, 2005.

LING, Y.C.; TENG, H.C. Supercritical fluid extraction and clean-up of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in mussels. *Journal of Chromatography A*, v. 790, p. 153–160, 1997. doi:10.1016/S00219673(97)00734-6

LU, T.; GASPAR, F.; MARRIOTT, R.; MELLOR, S.; WATKINSON, C.; AL-DURI, B.; SEVILLE, J.; SANTOS, R. Extraction of borage seed oil by compressed CO<sub>2</sub>: Effect of extraction parameters and modelling. *J. of Supercritical Fluids*, v. 41, p. 68–73, 2007.

MACHALOVA, Z.; SAJFRTOVA, M., PAVELA, R.; TOPIAR, M. Extraction of botanical pesticides from Pelargonium graveolens using supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products*, v. 67, p. 310–317, 2015.

MANICA, I. Fruticultura tropical 4. - Banana. Porto Alegre: Cinco Continentes, p 485, 1997.

MARQUES, M. *Avaliação do Impacto de Agrotóxicos em Áreas de Proteção Ambiental, Pertencentes à Bacia Hidrográfica do Rio Ribeira de Iguape, São Paulo. Uma Contribuição à Análise Crítica da Legislação sobre o Padrão de Potabilidade*. 2005. 218 f. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear- Materiais)- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, SP, 2005.

MARTÍNEZ, J., ROSA, P.T.V., MEIRELES, M.A.A. Extraction of clove and vetiver oils with supercritical carbon dioxide: modeling and simulation. *The Open Chemical Engineering Journal*, v. 1, p. 1–7, 2007.

MATEUS, N.B; BARBIN, D.; CONAGIN, A. Viabilidade de uso do delineamento composto central. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 23, n. 6, p. 1537-1546, 2001.

MCNALLY, M.E.P. Advances in Environmental SFE. *Anal. Chem.*, v. 67, n. 308, 1995.

MEIRELES, M.A.A.; LEAL, P.F.F.; ALEXANDRE, C.; KFOURI, M.B. "Extraction process of active substances from brazilian ginseng", PI0900551-0A2, Brazil, 2009.

MENDES, M.; PESSOA, F.; ULLER, A. An economic evaluation based on an experimental study of the vitamin E concentration present in deodorizer distillate of soybean oil using supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 23, p. 257-265, 2002.

MEZZOMO, N.; MARTINEZ, J.; FERREIRA, S.R.S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: kinetics, mathematical modeling and scale-up. *J. Supercrit. Fluids*, v. 51, p. 10–16, 2009.

MIĆIĆ, V.; YUSUP, S.; DAMJANOVIĆ, V.; CHAN, Y.H. Kinetic modelling of supercritical carbon dioxide extraction of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves and jatropha (*Jatropha curcas* L.) seeds. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 100, p. 142-145, 2015.

MINOZZO, M.; POPIOLSKI, A.; PRA, V.D.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.L.; OLIVEIRA, J.V. et al., Modeling of the overall kinetic extraction from *Maytenus aquifolia* using compressed CO<sub>2</sub>. *Braz. J. Chem. Eng.*, v. 29, p. 835–843, 2012.

MOREAU, R.A.; WHITAKER, B.D.; HICKS, K.B. Phytosterols, phytosterols and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis and healthpromoting uses. *Prog. Lipid Res.*, v. 41, n. 6, p. 457-500, 2002.

OLIVEIRA, L.; FREIRE, C.S.R.; SILVESTRE, A.J.D.; CORDEIRO, N. Lipophilic extracts from banana fruit residues: A source of valuable phytosterols. *J Agr Food Chem*, v. 56, p. 9520–9524, 2008.

OSUJI, J.O.; HARRISON, G.; CROUCH, J.; HESLOP-HARRISON, J. S. Identification of genomic constitution of *Musa* L. lines (bananas, plantains and hybrids) using molecular cytogenetics. *Annals of Botany*, London, v. 80, p. 787-793, 1997.

PAPADAKIS, E. N.; VRYSAS, Z.; PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E. Rapid method for the determination of 16 organochlorine pesticides in sesame seeds by microwave-assisted extraction and analyses of extracts by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, v. 6, p 1127, 2006

PAPAMICHAIL, I.; LOULI, V.; MAGOULAS, K. Supercritical fluid extraction of celery seed oil. *J. Supercrit. Fluids*, v. 18, p. 213–226, 2000.

PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction. Theory and Practice, *Wiley-VCH: New York*, 1997.

PEREIRA, C.S.S. PESSOA, F.L.P., MENDONÇA, S., RIBEIRO, J.A.R., MENDES, M.F. Technical And Economic Evaluation Of Phorbol Esters Extraction From Jatropha Curcas Seed Cake Using Supercritical Carbon Dioxide. *American Journal of Biomass and energy*. v. 5, no. 2, p. 65-80, 2016.

PINTO, G.M.F.; PINTO, J.F; & JARDIM, I.C.S.F. Extração com Fluido Supercritico. *Chemkeys*, Março/2006.

QUEIROZ, M.E.C., LANÇAS, F.M., *LCGC North America*, ed 22, f. 970, 2004.

RAMOS L.; KRISTENSON E.M.; BRINKMAN U.A.T. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*; v. 975, n. 3, 2002. doi:10.1016/S00219673(02)01336-5

RAO, A.V.; RAO, L.G. Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, v. 55, p. 207- 216, 2007.

REBELO R.M.; VASCONCELOS R.A.; BUYS B.; MAC C.D.; REZENDE J.A.; MORAES, K.O.C.; OLIVEIRA R.P. Pesticides and related commercialized in Brazil in 2009. *An environmental approach.*, Brasilia: IBAMA, 2010. Disponível em: <[http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade\\_Ambiental/pesticidas\\_comercializados\\_no\\_brasil\\_2009.pdf](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/pesticidas_comercializados_no_brasil_2009.pdf)>. Acessado em 03/06/2016.

REVELO, R. Produtos Agrotóxicos e Afins Comercializados em 2009 no Brasil: uma Abordagem Ambiental. *IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis*. Brasilia, BR. p. 84, 2010.

REVERCHON, E.; OSSEO, L.S. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of basil oil: characterization of products and process modeling. *J. Supercritical Fluids*, v. 7, p. 185–190, 1994.

REVERCHON, E., PORTA, G.D. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction and fractionation of lavender essential oil and waxes. *J. Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, p. 1654–1658, 1995.

RISSATO, S.; GALHIANEA, M.S.; KNOLLB, F. R.N.; APONC, B.M. Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A.*, v. 1048, n. 2, p. 153–159, 10 September 2004.

RISSATO, S.; GALHIANEA, M.S.; SOUZA, A. G.; APONC, B.M. Supercritical fluid extraction method for simultaneous determination of organophosphorus, organochlorine and pyrethroids pesticides in fruit and vegetable and its comparison with a conventional method by GC-ECD and GC-MS. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 16, n. 5, p. 153–159, 2005.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M.; GODOY, H.T., AMAYA-FARFAN, J. Updated brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 21, p. 445– 463, 2008.

RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S. L. et al. Characterization of fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. *Food Chem.*, v. 107, p. 1515-1521, 2008.

ROSA, P.T.V., & MEIRELES, M.A.A. Fundamentals of supercritical extraction from solid matrices. In Meireles M.A.A. (Ed.), *Extracting bioactive compounds for food products: theory and applications*. Chap. 6.1, p 272-287. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2009.

SAITO-SHIDA, S.; NEMOTO, S.; MATSUDA, R. Multiresidue Analysis of Pesticides in Vegetables and Fruits by Supercritical Fluid Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Hyg. Saf. Sci.*, v. 55, n. 3, 2014.

SANTOS, P.; AGUIAR, A. C.; BARBERO, G. F.; REZENDE, C. A.; MARTÍNEZ, J. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 22, p. 78–88, 2015.

SAVOY, V.L. Classificação dos Agrotóxicos. *Biológico*, São Paulo, SP, v. 73, n. 1, p. 91-92, 2011.

SILVA, C.F.; MENDES M.F.; PESSOA F.L.P.; QUEIROZ E.M. Supercritical carbon dioxide extraction of macadamia (*Macadamia integrifolia*) nut oil: experiments and modeling, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 25, p. 175, 2008.

SILVA, R.; ROCHA-SANTOS, T.; DUARTE, A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 76, p. 40–51, 2016.

SILVA, S.O.; FLORES, J. C.; LIMA NETO, F. P. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira em quatro ciclos de produção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.37, n.11, p.1.567-1.574, 2002.

SINGH, R.P.; TYAGI, AK., DHANALAKSHMI, S., AGARWAL, R.; AGARWAL, C. Grape seed extract inhibits advanced human prostate tumor growth and angiogenesis and upregulates insulin-like growth factor binding protein-3, *Int J Cancer*, v. 108, p. 733–740, 2004.

SINGH, J.P.; KAUR, A.; SHEVKANI, K.; SINGH, N. Influence of jambolan (*Syzygium cumini*) and xanthan gum incorporation on the physicochemical, antioxidant and sensory properties of gluten-free eggless rice muffins. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 50, p. 1190-1197, 2015.

SINGH, J.P.; KAUR, A.; SINGH, N.; NIM, L.; SHEVKANI, K.; KAUR, H.; ARORA, D. S. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. *LWT-Food Science and Technology*, v. 65, p. 1025-1030, 2016.

SODEIFIAN, G.; GHORBANDOOST, S.; SAJADIAN, S.A.; ARDESTANI, N.S. Extraction of oil from Pistacia khinjuk using supercritical carbondioxide: Experimental and modeling. *J. of Supercritical Fluids*, v. 110, p. 265–274, 2016.

SOMEYA, S.;YOSHIKI,Y.; OKUBO,K. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). *Food Chemistry*, v. 79, p. 351–354, 2002.

SOUZA, A.L.B. *Extração e caracterização da biomassa e do óleo da microalga Desmodesmus sp. usando dióxido de carbono supercrítico*. Dissertação (Mestrado em

Engenharia Química, Tecnologia Química). Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>. I. Modeling of extraction curves, *Chemical Engineering Science*, v. 49, n. 3, p. 409–414, 1994.

STEFANI, R.; BUZZI, M.; GRAZZI, R. Supercritical fluid extraction of pesticide residues in fortified apple matrices. *Journal of Chromatography A*, v. 782, p. 123-132, 1997.

STOVER, R.H.; SIMMONDS, N.W. *Bananas*. 3ed. Longman Scientific & Technical, Essex, England. 1987.

STUART, I.A.; MACLACHLAN, J.; MCNAUGHTAN, A.; Compounds of Agricultural Significance Using Environmental Analytical Supercritical Fluid Extraction, *Analyst*, v.121, 1996.

SUBRA, P.; LAUDANI, C.; VEGA-GONZÁLEZ, A.; REVERCHON, E. Precipitation and phase behavior of theophylline in solvent–supercritical CO<sub>2</sub> mixtures. *Journal supercritical fluids*. v. 35, n. 2, p. 95-105, 2005.

SUO, Q.L.; HE, W.Z.; HUANG, Y., C.; LI, C.P.; HONG, H.L.; LI, Y.X.; ZHU, M. D. Micronization of the natural pigment-bixin by the SEDS process through prefilming atomization. *Powder Technology*, v. 154, p. 110-115, 2005.

TABERNERO, A.; VIEIRA, S.A.B.M.; MAMMUCARI, R.; VALLE, E.M.M.D.; FOSTER, N.R. *Modeling solubility of solids in supercritical carbon dioxide using q-chrastil equation*. III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias, Colombia, 2013.

TACCHEO, M. B.; BAGAROLO, L. & PARONI, S. Multiresidue Method for the Determination of fungicides on Fruits and Vegetables using Capillary Gas Chromatography, *Informatore fitopatologico*, v. 12, p. 41, 1985.

TAYLOR, L.T.; *Supercritical Fluid Extraction*, John Wiley & Sons, INC., New Yorkp 181, 1996.

TEWARI, H. K.; MARWAHA, S. S.; RUPAL, K. Ethanol from bananas peels. *Agricultural Wastes*, v. 16, n. 2, p135–146, 1986.

VALSAMAKI, V.I.; BOTI, V.I.; SAKKAS, V.A.; ALBANIS, T.A. Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in chicken eggs by matrix solid phase dispersion. *Analytica Chimica Acta*, v. 573-574, p. 195–201, 2006.

VALVERDE, A.; AGUILERA, A.; RODRIGUEZ, M.; BROTONS, M. Evaluation of a multiresidue method for pesticides in cereals using supercritical fluid extraction and gas chromatographic detection. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, v. 44, p. 204–213, 2009.

VENTURA, J. A.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, L. *Estratégia para o controle de doenças pós-colheita*, II Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita. Frutas, hortaliças e flores 24 a 27 de abril de 2007 UFV – Viçosa MG.

VILLAVERDE, J. J.; OLIVEIRA, L.; VILELA, C.; DOMINGUES, M. R. M.; FREITAS, N.; CORDEIRO, N.; FREIRE, C. S. R.; SILVESTRE, A. J. D. High valuable compounds from the unripe peel of several *Musa* species cultivated in Madeira Island (Portugal). *Industrial Crops and Products*, v. 42, p. 507–512, 2013.

WEINHOLD, T. S.; BRESCIANI, L. F. V.; TRIDAPALLI, C. W.; YUNES, R. A.; HENSE, H.; FERREIRA, S. R. S. Polygala cyparissias oleoresin: comparing CO<sub>2</sub> and classical organic solvent extractions. *Chemical Engineering and Processing*, v. 47, p. 109-117, 2008.

WUBBOLTS, F. *Supercritical crystallization: volatile components as anti-solvent*, Ph.D. thesis, TUD, Universal Press Science Publisher, The Netherlands, 2000.

WUCHNER, K.; GROB, R. *Analisis.*, v. 23, p. 227-229, 1995.

ZEKOVIĆ, Z.P.; LEPOJEVIĆ, Ž.D.; MILOŠEVIĆ, S.G.; TOLIĆ, A.Š. Modeling of the thyme–liquid carbon dioxide extraction system. *Acta Periodica Technologica*, v. 34, p. 125–133, 2003.

ZHANG, P.; WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; HAMAKER, B. R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility. *Carbohydrate Polymers, West Lafayette*, v. 59, p. 443-458, 2005.

ZOUGAGH, M.; VALCÁREL, M.; RIOS, A. Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness, *Trends in Analytical Chemistry*, v. 23, p. 399, 2004.

## ANEXO I – Características dos agrotóxicos estudados.

**Tabela 22** - Caracterização química dos agrotóxicos selecionados para estudo.

Agrotóxicos	Grupo Químico / Classe	Fórmula Molecular	Modo de Ação	Modalidade de Emprego	LMR (mg.kg <sup>-1</sup> )	K <sub>ow</sub>	S <sub>w</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	TE (° C)	MM (g.mol <sup>-1</sup> )
Propiconazol	Triazol / Fungicida	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Sistêmico: funciona através da desmetilação em C-14, durante a biossíntese do ergosterol.	Foliar	0,1	5,25. 10 <sup>3</sup>	150	Sd	342,22
Tiabendazol	Benzimidazol / Fungicida	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	Sistêmico: Age por comprometer o citoesqueleto através de uma interação seletiva com tubulina.	Pós-Colheita	6,0	2,45. 10 <sup>2</sup>	30	-	201,25
Clorpirifós	Organofosforado / Inseticida	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	Não-sistemático com contato e ação do estômago. Inibição da acetilcolinesterase (AChE).	Localizada	0,01	5,01. 10 <sup>4</sup>	1,05	Sd	350,58
Dimetoato	Organofosforado / Inseticida e acaricida	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	Sistemático com contato e ação do estômago. Inibidor da AChE.	NA	NA	5,06. 10 <sup>00</sup>	39800	Sd	229,26
Azoxistrobina	Estrobilurina / Fungicida	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	Translaminar sistêmica. Inibidor da respiração.	Foliar	0,5	3,16. 10 <sup>2</sup>	6,7	360	403,4
Carbaril	Metilcarbamato de Naftila / Inseticida	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	Ligeiras propriedades sistêmicas. Inibidor de colinesterase.	Foliar	0,2	2,29. 10 <sup>2</sup>	9,1	210	201,22
Difenoconazol	Triazol / Fungicida	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	Sistêmica. Perturba a ação da membrana.	Foliar	0,5	2,29. 10 <sup>4</sup>	15,0	101	406,26

**Tabela 22** - Caracterização química dos agrotóxicos selecionados para estudo.

(Continuação).

Imazalil	Imidazol / Fungicida	$C_{14}H_{14}C_{12}N_2O$	Sistêmica. Perturba a ação da membrana.	Pós-Colheita	1,0	$3,63 \cdot 10^2$	184	Sd	297,18
Carbofunano	Carbamato / Inseticida, cupinicida, acaricida e nematocida.	$C_{12}H_{15}NO_3$	Sistêmico com contato e ação do estômago. Inibidor da AChE.	Solo	0,1	$6,31 \cdot 10^1$	322	254	221,26
Terbufós	Organofosforado / Inseticida e nematocida.	$C_9H_{21}O_2PS_3$	Sistêmica. Inibidor de colinesterase.	Solo	0,05	$3,24 \cdot 10^4$	4,5	-	288,4
Etoprofós	Organofosforado / Nematocida e inseticida	$C_8H_{19}O_2PS_2$	Não-sistêmico com ação de contato. inibidor da AChE.	NA	NA	$9,77 \cdot 10^2$	1300	244,3	242,3
Ametrina	Triazina / Herbicida	$C_9H_{17}N_5S$	Sistêmico absorvido pela folhagem e raízes. Inibe a fotossíntese.	Pré/Pós-emergência	0,07	$4,27 \cdot 10^2$	200	337	227,12
Trifloxistrobina	Estrobilurina / Fungicida	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	Inibidor da respiração (QV fungicida).	Foliar	0,05	$3,16 \cdot 10^4$	0,61	Sd	408,37
Bromuconazol	Triazol / Fungicida	$C_{13}H_{12}BrCl_2N_3O$	Sistêmica. Inibidor da biossíntese de Esteróis.	Foliar	0,5	$1,74 \cdot 10^3$	48,3	Sd	377,06
Diuron	Uréia / Herbicida	$C_9H_{10}Cl_2N_2O$	Sistêmica, absorvido pelas raízes, atua fortemente inibindo a fotossíntese.	Pré/Pós-emergência	0,1	$7,41 \cdot 10^2$	35,6	Sd	233,09
Epoxiconazol	Triazol/ Fungicida	$C_{17}H_{13}ClFN_3O$	Ação preventiva e curativa. Inibidor da biossíntese de Esteróis.	Foliar	0,1	$2,00 \cdot 10^3$	7,1	Sd	329,76

**Tabela 22 - Caracterização química dos agrotóxicos selecionados para estudo.**

(Continuação).

Fenamifós	Organofosforado / Nematicida	$C_{13}H_{22}NO_3PS$	Sistêmica e de contato, absorvido através raízes.	Solo	0,1	$2,00 \cdot 10^3$	345	Sd	303,36
Flutriafol	Triazol / Fungicida	$C_{16}H_{13}F_2N_3O$	Sistêmica. Inibidor da biossíntese de Esteróis.	Localizada	0,1	$2,00 \cdot 10^2$	95,00	-	301,29
Imidacloprido	Neonicotinóide / Inseticida	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	Sistêmica e de contato. Inibe o receptor de acetilcolina (nAChR).	Foliar	0,1	$3,72 \cdot 10^0$	610	Sd	255,66
Piraclostrobina	Estrobilurina / Fungicida	$C_{19}H_{18}ClN_3O_4$	Inibidor da respiração (QV fungicida).	Foliar	0,5	$9,77 \cdot 10^3$	1,9	Sd	387,8
Pirimetanil	Anilino pirimidina / Fungicida	$C_{12}H_{13}N_3$	Inibe a síntese da proteína metionina.	Foliar	0,1	$6,92 \cdot 10^2$	121	Sd	199,11
Simazina	Triazina / Herbicida	$C_7H_{12}ClN_5$	Sistêmico. Inibe a fotossíntese.	Pré/Pós- emergência	0,02	$2,00 \cdot 10^2$	5,00	Sd	201,66
Tebuconazol	Triazol / Fungicida	$C_{16}H_{22}ClN_3O$	Sistêmico. Inibidor da biossíntese de Esteróis.	Foliar	0,05	$5,01 \cdot 10^3$	36,00	Sd	307,82
Tetraconazol	Triazol / Fungicida	$C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$	Sistêmico. Inibidor da biossíntese de Esteróis.	Foliar	0,2	$3,63 \cdot 10^3$	156,6	Sd	372,15
Tiacloprido	Neonicotinóide / Inseticida	$C_{10}H_9ClN_4S$	Inibe o receptor de acetilcolina (nAChR).	Foliar	0,05	$1,82 \cdot 10^1$	184	Sd	252,72
Tiofanato-metílico	Benzimidazol / Fungicida	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	Inibidor da mitose e da divisão celular.	Foliar	0,5	$2,82 \cdot 10^1$	20	Sd	342,39
Triadimenol	Triazol / Fungicida	$C_{14}H_{18}ClN_3O_2$	Inibidor da biossíntese de Esteróis.	Foliar	0,2	$1,51 \cdot 10^3$	72,00	Sd	295,76
Trifloxistrobina	Estrobilurina / Fungicida	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	Inibidor da respiração (QV fungicida).	Foliar	0,05	$3,16 \cdot 10^4$	0,61	Sd	408,37

Legenda: Kow: coeficiente de partição octanol-água. Sw: solubilidade em água. TE: temperatura de ebulição. MM: massa molar. Sd: se descompõe antes da ebulição. NA: Não Autorizado para Banana. Fonte: ANVISA (2016); IUPAC (2016).

**ANEXO II – Lista dos agrotóxicos presentes na solução estoque.**

**Tabela 23** - Princípios ativos dos agrotóxicos presentes na solução estoque.

<b>Agrotóxicos analisados pelo UPLC-MS/MS</b>			
3-OH-carbofurano	Dietofencarbe	Fosmete	piraclostrobina
abamectina	Difenoconazol	Furatiocarbe	pirazofós
Acefato	Diflubenzuron	Halofenosídeo	piridaben
acetamiprido	Dimetoato	Hexaconazol	piridafentiona
Aldicarbe	Dimetomorfe	Hexitiazoxi	pirifenox
aldicarbe sulfona	Dimoxistrobina	Imazalil	pirimetanil
aldicarbe sulfóxido	Diniconazol	Imidacloprido	pirimicarbe
ametrina	Dissulfotom	Indoxacarbe	etiona
atrazina	Diuron	Iprovalicarbe	pirimifós etílico
azaconazol	Dmsa	Isoprotilona	pirimifós metílico
azametifós	Dmst	Isoxaflutol	piriproxifem
azinfós etílico	Dodemorfe	Isoxationa	procloraz
azinfós metílico	Epoxiconazol	Linurom	profenofós
azoxistrobina	Espinosade	Malationa	propargito
benalaxil	Espirodiclofen	Mefenacete	propiconazol
bitertanol	Espiroxamina	Mefosfolan	propizamida
boscalida	etiofencarbe sulfona	Mepanipirim	propoxur
bromuconazol	etiofencarbe sulfóxido	Mepronil	quinalfós
bupirimato	pirimicarbe desmetil	Metalaxil	tebuconazol
buprofezina	Etiprole	Metamidofós	tebufenosida
butocarboxim sulfóxido	Etirimol	Metconazol	tebufenpirade
cadusafós	Etofenproxi	Metidationa	terbufós
carbaril	Etoprofós	Metiocarbe	tetraconazol
carbendazim	Etrinós	metiocarbe sulfona	tiabendazol
carbofurano	Famoxadona	metiocarbe sulfóxido	tiacloprido
carbossulfano	Fenamidona	Metobromuron	tiametoxam
carpropamida	Fenamifós	Metomil	tiobencarbe
ciazofamida	Fenarimol	Metoxifenosida	tiodicarbe
cimoxanil	Fenazaquina	Metoxuron	tiofanato metílico
ciproconazol	Fenbuconazol	Mevinós	tiofanox sulfona
ciprodinil	Fenhexamida	Miclobutanil	tiofanox sulfóxido
ciromazina	Fenoxicarbe	Monocrotofós	tolclofós metílico
clofentezina	Fenpiroximato	Monolinuron	Tolifluanida
clorbromuron	Fenpropidina	Nitenpiran	Triadimefon
clorfenvinfós	Fenpropimorfe	Nuarimol	Triadimenol
clorpirifós	Fentiona	Ometoato	Triazofós
clorpirifós metílico	fentiona sulfóxido	Oxadixil	Triciclozol
clotianidina	Fentoato	Oxamil	Triclorfon
coumafós	fluazifope-p-butílico	oxamil oxima	Trifloxistrobina

---

**Tabela 23** - Princípios ativos dos agrotóxicos presentes na solução estoque.

(continuação)			
cresoxim metílico	Flufenacete	Oxicarboxina	Triflumizol
demeton-s-metílico	Flufenoxuron	Paclobutrazol	Triticonazol
desmedifan	Fluquinconazol	Pencicuirom	Vamidotiona
diazinona	Flusilasol	Penconazol	Zoxamida
diclofuanida	Flutriafol	Picoxistrobina	
diclorvós	Fosalona	Pimetrozina	
dicrotofós	Fosfamidona	piperonil butóxido	

---